

**WACHSTUMS- UND
STOFFAUFNAHMEPROZESSE
BEI ACETABULARIA
IM LICHT UND IN DUNKELHEIT**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Biologie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Frank Hellmann
aus Wreschen

1976

**WACHSTUMS- UND
STOFFAUFNAHMEPROZESSE
BEI ACETABULARIA
IM LICHT UND IN DUNKELHEIT**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Biologie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Frank Hellmann
aus Wreschen



1. Referent: Prof. Dr. H. Clauss

2. Referent: Prof. Dr. H.-J. Küster

Tag der mündlichen Prüfung: 5.1.1976

Inhalt

Einleitung	- 3 -
Material und Methode	- 6 -
Sterilkulturen von <i>Acetabularia</i>	- 6 -
Wachstums- und Wirtelmessungen	- 7 -
Untersuchungen von Cysten	- 8 -
Radioaktive Markierungsstoffe	- 8 -
Inkubationsversuche mit radioaktivmarkierten Stoffen	- 8 -
Ergebnisse	- 13 -
Fütterung steriler Zellen von <i>A.cliftonii</i>	- 13 -
Wachstum und Entwicklung von <i>Acetabularia</i> -Zellen	- 16 -
Längenwachstum, Hut- und Cystenbildung bei <i>A.clift</i>	- 17 -
Längenwachstum, Wirtel- Hut- und Cystenbildung bei <i>A.calyculus</i>	- 29 -
Wachstum und Wirtelbildung bei <i>A.calyculus</i>	- 33 -
Wachstum als Flächen- und Volumenzunahme	- 38 -
Vergleichende Untersuchungen der Aufnahme radioaktivmarkierter Stoffe im Licht und im Dunkeln	- 42 -
1. Die Stoffaufnahme durch Cysten	- 42 -
2. Die Aufnahme und Metabolisierung von D-Glucose-C-14(U) durch Zellen von <i>A.med</i>	- 45 -
A) Die Aufnahme von D-Glucose-C-14(U) durch Zellen von <i>A.med</i>	- 45 -
B) Die Metabolisierung von D-Glucose-C-14(U) durch Zellen von <i>A.med</i>	- 46 -
Die Aufnahme und Verarbeitung verschiedener, markierter Stoffe durch <i>A.med</i>	- 50 -
A) Die Gesamt-C-14-Inkorporation nach Fütterung von Glucose, Saccharose, Glycin und Phenylalanin	- 50 -
B) Die Metabolisierung von Glucose, Saccharose, Glycin und Phenylalanin	- 54 -
Der Einfluß einer Dunkelperiode auf die Inkorporation und Metabolisierung von D-Glucose in <i>A.med</i>	- 55 -
Der Anteil einzelner, radioaktivmarkierter, löslicher Zucker und Aminosäuren an der Fraktion löslicher Zucker bzw. der Aminosäurefraktion nach Anbieten verschiedener, markierter Zucker bzw. Aminosäuren	- 59 -

Diskussion	- 63 -
1. Dunkelfütterungen steriler Zellen	- 63 -
2. Flächen- und Volumenrelationen in Bezug auf die Stoffaufnahme	- 65 -
3. Cysten- und Hutbildungsphasen	- 67 -
4. Wirtelbildung	- 69 -
5. Einbauversuche mit Cysten	- 70 -
6. Glucose- und Aminosäureeinbau in Zellen	- 71 -
Zusammenfassung	- 79 -
Literatur	- 80 -

Wachstums- und Stoffaufnahmeprozesse bei Acetabularia im Licht und in Dunkelheit

Einleitung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit Aspekten der Lichtabhängigkeit der Entwicklung von Acetabulariazellen.

Eine der besonderen Eigenschaften von Acetabulariazellen ist die Tatsache, daß sie ihr Wachstum im Dunkeln völlig einstellen (TERBORGH und THIMANN 1964; HÄMMERLING, J. und Ch. 1959). Junge, d.h. sehr kleine Zellen (Stiellänge < 3 mm) und besonders auch die Cysten lassen sich so, mit gelegentlichem Mediumwechsel und Zwischenbelichtungen, jahrelang im Dunkeln halten. Werden sie wieder ins Licht gebracht, wachsen sie normal weiter und sind in ihren Leistungen bisher nicht von Zellen zu unterscheiden, die sofort aus der Zygote auswachsen. Altersangaben sind bei Acetabularia daher relativ. Sie beziehen sich in der Regel ausschließlich auf den Zeitraum des Versuchs, bei Cysten ohne genaue Definition und bei Zellen durch Vorgabe bestimmter Längen. Über das absolute Alter der Zellen wird damit nichts ausgesagt.

Die Einstellung von Wachstums- und damit auch von Entwicklungsleistungen im Dunkeln, bedeutet eine drastische Minderung des Stoffwechsels. Um abschätzen zu können, inwieweit sich Dunkel- und Lichtumsatz der Zellen quantitativ und qualitativ voneinander unterscheiden, bieten sich Einbauversuche mit radioaktivmarkierten Stoffen an. Von einer anderen Fragestellung ausgehend, hat TREBOUX mit nichtmarkierten Stoffen ähnliches 1905 versucht. Da er herausfinden wollte, welche Stoffe den Kohlenstoffbedarf von Algen zu decken vermögen, war für ihn die Dunkelheit eine notwendige Versuchsbedingung, um die Kohlenstoffassimilation durch Photosynthese auszuschließen. Von etwa 20 organischen Säuren und Aminosäuren erwies sich Acetat als wachstumsfördernd bei 20 von 40 getesteten Algenarten. Ähnliche Untersuchungen wurden in späteren Jahren von vielen anderen Autoren mit den verschiedensten Algenarten durchgeführt (ausführliche Literaturan-

gaben bei DROOP in STEWART 1974).

Als Resultat lassen sich die untersuchten Algen in Gruppen zusammenfassen, entsprechend der Möglichkeit, bei ihnen Wachstum im Dunkeln zu induzieren.

1. Dunkelwachstum induzierbar durch: Aminosäuren,
2. Glucose oder Acetat,
3. Glucose aber nicht Acetat,
4. Acetat aber nicht Glucose.
5. Dunkelwachstum weder durch Glucose noch durch Acetat induzierbar.

Grenzfälle bilden die fakultativ chemotrophen Algen, die nur unter bestimmten Bedingungen, z.B. unphysiologisch hohe Konzentrationen der Zusatzstoffe, organische Substrate verwerten können.

Auf die Acetabulariazelle übertragen ist zu untersuchen, inwieweit bei ihr durch entsprechende Zusätze im Dunkeln Wachstum induziert werden kann.

Neben dieser Fragestellung ist zunächst zu klären, ob eine Stoffaufnahme im Dunkeln stattfindet und ob diese Stoffe im Dunkeln weiterverarbeitet werden. Weiterhin sind etwaige Abhängigkeiten vom Entwicklungsstand des Organismus und von modifizierten Lichtbedingungen zu untersuchen und auch umgekehrt, wie die im Dunkeln gebotenen Zusätze ggf. die Zellen beeinflussen.

Damit erweist sich das Problem als höchst komplex. Lichtbedingungen, physiologischer Zustand und Entwicklungsstadium der Zellen, Art des Zusatzstoffes und dessen Menge stehen in vielfältigen Wechselbeziehungen zueinander. Es wird daher versucht, Problemkreise aufzulösen und bestimmte Phänomene zunächst isoliert zu betrachten.

Als erstes sollen TREBOUXs Experimente direkt auf Acetabularia übertragen werden. Dann ist das Wachstum und die Entwicklung spezifisch zu analysieren, um einen Parameter zu gewinnen gegen den spätere Veränderungen gemessen werden können, und um die Leistungen der Zellen in Beziehung zur Stoffaufnahme und zum Energiebedarf zu setzen. Ausgehend von der Überlegung, daß innere und äußere Oberflächen im molekularen Bereich grundsätzlich aktiv sind und damit vor allem auch für die Stoffaufnahme bedeutsam sein können, wird das Wachstum und die Entwicklung besonders unter dem

Aspekt der Flächen- und Volumenveränderung gesehen. Bei den dann anschließenden Experimenten zur Stoffaufnahme ist u.a. neben dem Zusammenhang zu Syntheseleistungen (Aufbau von Flächen und Volumina) ggf. eine Verbindung zur Wirkung der Flächen aufzuzeigen. Die Untersuchung des Metabolismus der zugesetzten C-14-markierten Substanzen, soll schließlich Hinweise auf stoffwechselphysiologische Mechanismen liefern.

Material und Methode

Für die einzelnen Untersuchungen wurden die Arten *Acetabularia calyculus* (A.cal), *Acetabularia cliftonii* (A.clift) und *Acetabularia mediterranea* (A.med) aus Stammkulturen des Hauses verwendet. Bei A.cal ist die Wirtelbildung besonders ausgeprägt, A.clift-Zellen werden besonders groß und A.med war in größeren Mengen am leichtesten verfügbar.

Die Zellen wurden wie üblich in Erd-Schreiber-Medium angezogen, in 12:12 stündigem Licht-Dunkel-Wechsel bei einer Beleuchtungsstärke von etwa 2500 Lux (Leuchtstoffröhre Philips TL 65 W/29) und 20-21 °C (z.B. HÄMMERLING 1963, KECK 1964).

Die Anzucht der Sterilkulturen erfolgte in Anlehnung an GIBOR (1963) und BERGER (1967).

Durch Homogenisieren werden die Cysten aus ihren Hüten präpariert (Glashomogenisator, Fa. Braun), und in 10 %iger Silberproteinlösung sterilisiert (Argyrol, später auch Targesin; 2 h, Dunkelheit, Zimmertemperatur). Argyrol wird von SHEPARD (1970) als "excessively toxic" für Zellen und Cysten beschrieben. Das ließ sich nicht bestätigen. Nach dem Auswaschen des Silberproteins (5 x mit sterilem Seewasser 90 %) wird ein zweites Mal mit Antibiotika sterilisiert (5 d, Zimmertemperatur, Dunkelheit).

Antibiotika: 200 mg Streptomycinsulfat,

100 mg Penicillin G,

20 mg Neomycinsulfat,

20 mg Chloramphenicol,

20 mg Mycostatin,

81 mg Bacitracin in 100 ml Seewasser 90 %.

Die Sterilisation der Antibiotikallösung erfolgt durch Sterilfiltration. Mycostatin wird von SHEPARD (1970) als toxisch beschrieben. Diese Angabe ließ sich nicht beweisen. Als kritischer erschien dagegen die Löslichkeit, die in Wasser äußerst gering ist. Ein gutes, unschädliches Lösungsmittel ist Propylenglycol (MILLBERGER 1954) in dem Mycostatin zunächst gelöst wurde. Später wurde ohne Mycostatin gearbeitet, ohne die Wirkung der Antibiotikallösung zu beeinträchtigen.

Anschließend werden die Cysten gewaschen (5 x steriles Seewasser 90 %), geschockt (A.dest., 3-5 min) und in

Sterilmedium bis zum Schwärmen der Gameten überführt. Dies ist die kritischste Stelle der Sterilanzucht, da es nur während der ersten Monate gelang, die Gameten zu bestimmten Zeiten schwärmen zu lassen.

Das Sterilmedium (pH 7.8) besteht aus 500 ml Seewasser, filtriert; 375 mg KNO_3 ; 100 mg Glycerophosphat; 7.5 ml Erdextrakt; 1 ml Eagle (100-fach).

Die Zygoten bzw. Zellgruppen (etwa jeweils 10) werden in 15 ml Sterilmedium in 25 ml Erlenmeyerkolben bei 500 Lux und 21 °C gehalten.

Ein Sterilitätstest wird bei Cysten oder Pflanzen mikroskopisch mit Ausstrichpräparaten bzw. durch Anzucht in Testmedium durchgeführt. Das Testmedium besteht aus 500 ml Sterilmedium ohne Eagle, 5 mg Hefeextrakt, 10 mg Pep-ton und 50 mg Glucose die zusammen autoklaviert werden.

Anschließend wird 1 ml Eagle (100-fach) zugesetzt.

Zur Messung des Wachstums und der Wirtel wurden 20 Zellen pro Kulturschale in 125 ml Erd-Schreiber-Medium gehalten. Die Beleuchtung erfolgte mit Weißlicht von oben (Leuchtstoffröhre Philips TL 65 W/29). Die Kulturschalen standen in offenen, mattschwarz lackierten Holzkästen von 13.5 x 13.5 cm² lichter Weite und 6.5 cm Höhe. Verschiedene Beleuchtungsstärken wurden durch Abdecken mit Neutralglas 14 x 14 cm² (Schott & Gen., Mainz) eingestellt. Das Medium wurde alle drei Wochen gewechselt. Bei den wöchentlichen Messungen wurden die Zellen kurzzeitig mit Glühlampenlicht (75 W) belichtet. Zellen über 80 mm Länge wurden zum Messen in flache Glasschalen (Ø 25 cm) überführt. Besonders die längeren Zellen wurden beim Messen nicht gestreckt (Dehnungs- und Bruchgefahr). Die Bestimmung des Zelldurchmessers erfolgte mit einem Leitz Umkehrmikroskop und Leitz Schraubenmikrometer-Okular. Bei den weiteren Berechnungen wurden für die Stiele Zylinder und für die Cysten Kugeln (A.clift) bzw. Ellipsoide (A.med) als Grundkörper angenommen. Hüte wurden von 1 mm Ø an gezählt, kleinere Differenzierungen galten als Hutanlagen. Der Hut von A.med wurde idealisiert als stark gestauchter Zylinder angesehen. Die einzelnen Hutkammern von A.clift entsprechen Ellipsoiden, da der schlankere Teil am Stielansatz durch die Verdickung am Kammerende kompensiert wird. Die maximale Zell-Länge (Maximallänge $s_{\max}$) ist die größte erreichte Durchschnittslänge. Die maximale Lebensdauer $t_{\max}$ umfaßt den

Zeitraum vom Versuchsbeginn bis zum Hut- oder Stielzerfall, unabhängig davon ob Cysten gebildet wurden. Die Wirtelzählungen erfolgten mit bloßem Auge. Jede Etage mit sichtbaren Differenzierungen zählte als ein Wirtel, unabhängig von der Anzahl der Wirtelteile.

Untersuchung von Cysten. Für jeden Versuch wurden etwa 950 Cysten aus einem Erlenmeyerkolben mit einer Pasteurpipette unter sterilen Bedingungen entnommen. Unter dem Kolben befand sich eine Glasplatte mit aufgezeichnetem Kreis, der eine bestimmte Fläche definierte. Bei gleichmäßig dichter Cystenverteilung im Erlenmeyerkolben konnte daher immer genau die Cystenmenge entnommen werden, die die Kreisfläche bedeckte; Fehler $\pm 4\%$. Die Volumenbestimmung der Cysten erfolgte durch Messungen mit dem Leitz-Umkehrmikroskop und einem Leitz Schraubenmikrometer-Okular.

Verwendete radioaktivmarkierte Verbindungen. Die radioaktivmarkierten Stoffe stammten von der Firma Radiochemical Centre, Amersham. Die Verbindungen waren in 2 % Äthanol sterilfiltriert abgepackt. Die erforderlichen Mengen für den Versuch konnten mit einer Hamilton Microliterspritze steril entnommen werden.

D-Glucose C-14 (U)	286.0 mCi/mmol,
Saccharose C-14 (U)	600.0 mCi/mmol,
Glycin C-14 (U)	114.0 mCi/mmol,
L-3-Phenylalanin C-14 (U)	477.0 mCi/mmol,
L-Glutaminsäure C-14 (U)	270.0 mCi/mmol,
Natriumhydrogencarbonat C-14	42.4 mCi/mmol.

Die Radioaktivitätsmessungen erfolgten mit einem Methan-durchflußzähler FH 407 bzw. Szintillationszähler Nuclear Chicago Mark I.

Inkubationsversuche mit radioaktivmarkierten Stoffen.

1. Inkubation von Cysten und Zellen unter verschiedenen Bedingungen.
 - a) Um eine Konzentration von 0.3, 1.1 oder 3.3 $\mu\text{C}/\text{ml}$ einzustellen, wird das Versuchsgefäß (Tablettenröhrchen, $\varnothing$ innen 11.5 mm, Höhe 65 mm) mit 2.0 - 114.3 μl radioaktiver Lösung, je nach spezifischer Aktivität versetzt.
 - b) Zugabe von Sterilmedium, 1 - 3 ml, je nach Zellgröße und Anzahl.
 - c) 5 μl Medium zur Radioaktivitätsmessung entnehmen (Kontrolle 1). Durch diese Messung wird die tatsächlich im Medium befindliche Radioaktivität bestimmt. Mit der Hamilton Microliterspritze lassen sich zwar grundsätzlich

die zugesetzten Mengen sehr genau dosieren, in einigen Fällen waren jedoch Abweichungen zwischen theoretisch zu erwartendem Wert und dem gemessenen Wert zu beobachten. Diese Differenz wurde ggf. als Korrekturfaktor F_K berücksichtigt.

- d) Cysten oder Zellen zugeben. Bei Cysten 950/ml; bei Zellen 20 mm lang 20/ml, 15 mm lang 100/3 ml, 10 mm lang 100/3 ml.
- e) Versuchsgefäß unter Beleuchtungsanlage geben.

Beleuchtungsanlage: Auf einer Schüttelmaschine ist eine Plexiglasplatte mit Bohrungen zur Aufnahme der Versuchsgefäße befestigt. Beleuchtung der Zellen durch eine Lampe, Philips Comptalux 150 W in 40 cm Höhe. Dazwischen befindet sich ein Plexiglasgehäuse ($25 \times 25 \times 15 \text{ cm}^3$) mit einem kontinuierlich fließenden Wasserstrom als Wärmefilter. Durch die gleichmäßige Schüttelbewegung wird eine homogene Stoffverteilung im Medium erreicht und der CO_2 -Austausch erleichtert. Die Beleuchtungsstärke ist durch Verschieben der Lampe und durch Neutralgläser auf dem Wärmefilter regulierbar. Durch entsprechende Abdeckungen kann ein Teil der Versuchsgefäße auf der Schüttelmaschine im Dunkeln (0 Lux) gehalten werden.

2. Aufarbeiten der Cysten und Zellen nach der Inkubation.

- a) 5 μl Medium zur Radioaktivitätsmessung entnehmen (Kontrolle 2). Die Differenz Kontrolle 1 - Kontrolle 2 zeigt die von den Pflanzen aufgenommene Menge an. Sie sollte etwa der Gesamtimpulsrate des Homogenats entsprechen.
- b) Cysten bzw. Zellen mit A.dest. waschen. Ende der Steril- bzw. aseptischen Phase.
- c) Überführung des Materials in einen Glashomogenisator (Kapazität 1 ml) mit A.dest. (0.3 ml bei Cysten, 1.0 ml bei Zellen). Unter Eiskühlung 1 min homogenisieren.
- d) Mit 30 μl des Homogenats Aktivitätsmessung (bei Cysten 100 μl), 50 μl zur Chlorophyllbestimmung (Cysten 150 μl) und 720 μl zum Aufschluß in Zellfraktionen (bei Cysten nicht).

3. Chlorophyllbestimmung.

Homogenat mit vier Teilen Aceton zentrifugieren, gegen Aceton 80 % messen. Bestimmung nach ARNON (1949) als Gesamtchlorophyll photometrisch bei 652 nm. Spektralphotometer Leitz PMQ II mit Mikroküvettenhalter und Mikroküvette MT 2 ($2 \times 10 \times 23 \text{ mm}^3$, B x T x H, Innenmaße).

4. Zeilaufschluß

Bestimmung der Impulsrate eines Aliquots des Homogenats, falls nicht schon früher geschehen. Die Abtrennung der "löslichen Fraktion" erfolgte im wesentlichen wie bei CLAUSS (1972).

Zur Entfernung der Pigmente aus der löslichen Fraktion wurde die lösliche Fraktion (etwa 24 ml) mit der 1.5-fachen Menge Chloroform im Scheidetrichter geschüttelt. In wenigstens 2 h trennte sich die Chloroformphase von einer wäßrigen Phase. Die Chloroformphase wurde mit 10 ml A.dest. gewaschen. Sie enthält im wesentlichen die Chlorophylle und Carotinoide aber auch Lipide. Die Impulsmessung erfolgte im Methandurchflußzähler.

Die beiden abgetrennten wäßrigen Phasen wurden vereinigt und im Rotationsverdampfer bei 40 °C auf 10 ml eingengt. Diese Fraktion enthält im wesentlichen die löslichen Zucker, Aminosäuren und organischen Säuren. In Anlehnung an NEAL und BEEVERS (1960) wurde der Extrakt mit Hilfe von Dowex 50-X-8(H) und Dowex 1-X-10-formiat in eine saure, basische und neutrale Fraktion getrennt. Die Eluate wurden im Rotationsverdampfer bei 40 °C eingedampft.

a) Aufschluß der Stärkefraktion wie bei CLAUSS (1972).

Aliquote Teile des Überstandes zur Impulsmessung, Rest zur Zuckerbestimmung mit Anthron.

b) Bestimmung des Zuckergehalts mit Anthron.

Anthron-Reagenz: 200 mg Anthron + 100 ml H_2SO_4 95 %.

2.5 ml Überstand des Stärkehydrolysats + 5 ml Anthron-reagenz (Eisbad, rühren); verschlossene Proben 7.5 min in kochendes Wasserbad; nach Abkühlung auf 25 °C bei 621 nm gegen A.dest. photometrieren. Probenextinktion mit Glucose-Eichkurve vergleichen.

c) Proteinhydrolyse mit Pronase.

Rückstand der Stärkeextraktion + 0.5 ml Tris pH 7.4 + 0.5 ml Pronase (250 µg/ml). Inkubation 72 h, 35 °C; zentrifugieren. Rückstand 1 x mit Äthanol abs. und 2 x mit Äthanol 80 % waschen (je 3 ml). Vereinigte Überstände $\hat{=}$ Proteinhydrolysat. Rückstand $\hat{=}$ "Restprotein" + Zellwandfraktion.

d) Restproteinaufschluß (ZETSCHE 1967).

Proteinrückstand + 2 ml 0.1 m Na-Desoxycholat, 1 h; zentrifugieren. 5 x waschen, 2 x 8 ml A.dest., 1 x 8 ml Äthanol 80 %, 2 x 5 ml Äther. Vereinigte Überstände $\hat{=}$

Restprotein. Rückstand $\hat{=}$ Zellwandfraktion.

e) Zellwandfraktion.

Aliquots des Rückstandes aus d) im Methandurchflußzähler messen.

f) Organische Säurefraktion.

Eingedampftes Eluat mit Äthanol 20 % aufnehmen. Impulsmessung (Methandurchfluß).

g) Aminosäurefraktion.

Eingedampftes Eluat mit Äthanol 20 % aufnehmen. Aliquote Teile zur Impulsmessung entnehmen (Methandurchfluß), Rest dünnschichtchromatographisch weiterverarbeiten auf DC-Fertigplatten MN CEL 300-25, 0.25 mm. Zweidimensionale Entwicklung (STAHL 1967).

1. Dimension n-Butanol:Aceton:Diäthylamin:Wasser
5 : 5 : 1 : 2.5.

2. Dimension Isopropanol:Ameisensäure (99 %):Wasser
20 : 1 : 5, bzw.

Isopropanol:Ameisensäure (99 %):Ammoniak.

Nach sehr guter (!) Plattentrocknung, Autoradiographie (ca. 3 w). Die radioaktivmarkierten Bereiche abschaben und im Scintillationszähler messen.

h) Lösliche Zucker.

Eingedampftes Eluat mit A.dest. (400 μ l) aufnehmen. Aliquote Teile zur Impulsmessung entnehmen, Rest papierchromatographisch weiterverarbeiten (HAIS/MACEK 1958, LINSKENS 1959).

Durchlaufchromatogramme mit Papier der Fa. Schleicher 2043 b, 47 x 28 cm² und verschiedenen Laufmitteln.

1. n-Butanol:Eisessig:Wasser (4:1:5), Epiphase, Rest in Trog stellen, Laufzeit 62 h.

2. n-Butanol:Eisessig:Wasser (5:1:2), keine Phasentrennung, Laufzeit 62 h.

3. Collidin:Wasser (1.2:1), Epiphase, 45 h Laufzeit.

4. Collidin:Lutidin:Wasser (1:1:2).

Nach Papiertrocknung, Autoradiographie (ca. 3 w). Zur Bestimmung der Impulsraten sind die radioaktivmarkierten Bereiche aus dem Papier auszuschneiden und im Szintillationszähler zu messen. Kohlenhydratidentifikation auf drei verschiedene Arten.

A) Aufnahme von Vergleichschromatogrammen.

B) Selektivwirkende Sprüh- und Nachweisreagenzien.

- Harnstoff/Salzsäure: Ketosentest; Maltosen- und Inositausschluß.
- Anilin/Phthalsäure: unterschiedliche Farbreaktionen.
- p-Anisidin/Phosphorsäure: Universalreagenz.
- Silbernitrat/Ammoniak: Inositnachweis u.a.
- Perjodsäure/Kaliumpermanganat/Benzidin: Universalreagenz und geeignetstes Inositreagenz.
- Silbernitrat/Aceton: unterschiedliche Farbreaktionen von reduzierenden und nichtreduzierenden Zuckern.

C) Elution von Einzelflecken und DC-Cochromatographie.

Laufmittel Ameisensäure:Butanon:t-Butanol:Wasser (1.5:3:4:1.5). Zweifachentwicklung; Sprühlösungen
1. Silbernitrat/Aceton, 2. 0.5 m Natronlauge in Methanol, 1.5 min auf 100 °C erhitzen.

Zur Berechnung der Impulsraten werden die Impulse des Gesamthomogenats gleich 100 % gesetzt. Die Anteile der einzelnen Fraktionen sind auf die jeweilige Gesamtpulsrate bezogen, die Anteile der einzelnen Zucker bzw. Aminosäuren dagegen auf die jeweilige Fraktion der löslichen Zucker bzw. Aminosäuren.

Anmerkungen

Prozentuale Vergleiche der Impulsraten unabhängiger Versuche sind nur mit Vorbehalt möglich, da die Ausbeuten nicht immer konstant sind.

Die den Tabellen und Abbildungen zugrunde liegenden Versuche wurden alle mindestens einmal reproduziert.

Ergebnisse

Fütterung steriler Zellen von *A. clift*

Die Versuche wurden mit Zellen von 0.5 - 2 mm Stiellänge durchgeführt. Da die Wachstumsrate bei jungen Zellen unter Normallichtbedingungen besonders groß ist, können etwaige Längenänderungen schneller gemessen werden. Weiterhin sind die kleinen Zellen noch gut mit einer Pipette zu übertragen, was die Sterilhaltung erleichtert. Eine Übertragung der Zellen nach 14 d in frisches Medium erwies sich dagegen als äußerst schwierig, da die dann 5-8 mm langen Zellen an der Pipettenwand kleben blieben. Andere Manipulationen lassen das Einbringen von Bakterien nicht ausschließen. Da außerdem die Dunkelzellen bei einer Übertragung Licht erhalten, wurden sämtliche Fütterungsversuche auf den Zeitraum nach der Überführung der jungen Zellen in frisches Medium bis zum ersten Mediumwechsel nach etwa 14 d beschränkt.

Die gefütterten Zusatzstoffe waren: Saccharose, Glucose, Na-Acetat, Glutaminsäure; Glucose-1-P, Glycerat-3-P, ATP und ATP+Glucose. Die Auswahl und Konzentration der Zusatzstoffe erfolgte zunächst nach TREBOUX (1905). Weiterhin wurden Endprodukte des lichtabhängigen Stoffwechsels, wichtige Stoffwechselintermediärprodukte und Energielieferanten angeboten. Besonders interessant schien der Saccharosezusatz zu sein, da dies der mit am häufigsten zu findende lösliche Zucker bei *Acetabularia* ist, der gut umgesetzt wird (SMESTAD et al. 1972). Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tab. 1 zusammengefaßt.

Die Gesamtheit aller Kontrollpflanzen im Licht und aller Dunkelzellen läßt sich wie folgt zusammenstellen (Tab. 2).

Tab. 2 Stiellängenänderung von Licht- und Dunkelzellen von *A. clift*

	Ausgangslänge		Durchschnittswert	Länge nach 14 d
	(mm)		(mm)	(mm)
500 lx	0.9	- 3.0	1.4	5.2
24 h	-	-	6.7	14.9
0 lx	1.0	- 2.5	1.5	1.7
	4.0 und	6.5	4.8	5.5
	10.8 und	17.0	13.9	14.0

Tab. 1 Zunahme der Stiellänge [mm] von steril aufgezogenen Zellen von A. clift in Abhängigkeit von Zusätzen zum Kulturmedium und vom Licht

Medium	0 Lux		500 Lux, Dauerlicht	
	0 d	14 d	0 d	14 d
Normal	1.9	1.9	2.0	7.3
+ Saccharose 0.5 %	1.5	1.5	3.0	9.0
1.0 %	1.8	1.8	1.5	8.5
+ Glucose 0.10 %	1.0	1.0	1.5	6.0
0.25 %	1.0	1.2	1.5	4.0
0.50 %	2.0	2.0	2.0	7.1
1.00 %	2.0	2.1	2.0	6.5
+ Glucose-1-P 0.1 %	1.3	1.7	1.0	5.0
	4.0	6.0	4.9	9.9
	10.8	11.0	11.0	26.0
0.3 %	1.5	2.9	0.9	3.9
	6.5	6.5	7.0	13.1
	17.0	17.0	2.0	9.0
+ Glycerat-3-P 0.1 %	1.3	1.4	1.3	1.7
0.3 %	1.0	0.8	1.0	5.0
+ Na-Acetat 0.1 %	1.1	1.6	1.0	4.9
	1.5	1.5	1.5	5.2
0.3 %	1.5	1.5	1.5	4.2
+ Glutaminsäure 0.1 %	1.1	1.8	1.0	4.0
	1.0	1.1	1.0	3.2
0.5 %	1.1	1.0	1.4	3.5
1.0 %	1.8	2.5	1.6	3.7
	1.4	1.5	1.5	3.1
+ ATP 10^{-3} M	1.6	1.6	1.8	4.2
+ ATP 10^{-5} M				
+ Glucose 0.5 %	2.5	2.5	2.2	4.9
+ ATP 10^{-5} M	4.0	4.1	4.0	10.4
+ ATP 10^{-5} M				
+ Glucose 0.5 %	2.0	2.5	1.5	5.2

Parallelversuche und Reproduktionen einer Konzentrationsstufe sind zusammengefaßt, falls die Zellen am Tag 0 die gleiche Länge hatten.

Genauigkeit der Längenmessung:

Bei Stiellängen von 1 - 5 mm $\pm$ 0.2 mm,
 bei 5 - 10 mm $\pm$ 0.4 mm,
 bei 10 - 26 mm $\pm$ 1.0 mm.

Wie die Daten der Tab. 1 zeigen, ist im Durchschnitt kein Zuwachs im Dunkeln zu beobachten, obwohl in Einzelfällen Längenänderungen meßbar waren. Diese Dunkelversuche ergaben:

		Ausgangslänge (mm)	Zuwachs nach 14 d (%)
Glucose	0.5 % + ATP 10^{-5} mol	2.0	25
Glucose-1-P	0.1 %	1.3	31
	0.1 %	4.0	50
	0.3 %	1.5	93
Na-Acetat	0.1 %	1.1	45
Glutaminsäure	0.1 %	1.1	64
	1.0 %	1.8	39

Die relativen Zuwachsraten sind teilweise beachtlich. Sie ließen sich jedoch nicht reproduzieren. Daher wird geschlossen, daß mit der hier angewandten Methode bei jungen Zellen von *A. clift* im Dunkeln kein Stielwachstum bewirkt werden kann.

Wachstum und Entwicklung von Acetabularia-Zellen

Im Vergleich zum Verhalten unter "Normallichtbedingungen" (etwa 2500 Lux; 12/12 h) stellt Acetabularia das Stielwachstum im Dunkeln (0 Lux; 24 h) ein. Da nach Dunkelperioden nie ein Stielzuwachs festgestellt wurde, kann angenommen werden, daß das Stielwachstum im Dunkeln sofort stoppt. Zwischen diesen Extremen kann die Beleuchtungsstärke und Dauer variiert werden. Damit ergibt sich die Möglichkeit, ggf. im Anschluß an die Fütterung von Zellen im Dunkeln, Zellen im "Schwachlicht" mit Zusatzstoffen zu versorgen. Neben dem Versuch, den "Alles-oder-Nichts"-Lichteffect aufzuheben, könnte damit vielleicht in den Mechanismus bei verminderter Licht(-Energie)-Zufuhr eingegriffen werden. Daher wurden zunächst Wachstumskurven unter verschiedenen Lichtbedingungen aufgenommen.

Die Aufnahme von Wachstumskurven ist im Prinzip relativ einfach, die leicht meßbare Längenzunahme ist das klassische Kriterium. Daneben müssen jedoch mindestens noch beachtet werden, die Zunahme des Zelldurchmessers (d.h. Oberflächenvergrößerung und Volumenzunahme) und die Wirtel bzw. Hutbildung (TERBORGH 1964, CLAUSS 1975). Über die Problematik, wann für ein Zellkollektiv der Hutbildungszeitpunkt anzugeben ist, s. TERBORGH 1965 und BETH 1955 a.

Obwohl hier zunächst nur das Wachstum behandelt wird, ist die stets damit verbundene Differenzierung zu berücksichtigen. So ändert sich z.B. die Zellwandzusammensetzung im Laufe der Entwicklung, insbesondere bei der Bildung des Hutes. Der letzte, äußerlich leicht beschreibbare Differenzierungsprozeß ist die Cystenbildung. Auch dieser Vorgang kann jedoch als Wachstum bezeichnet werden, sofern Wachstum als Vergrößerung von Oberflächen angesehen wird, mit den Cysten als im inneren gebildeten Oberflächen von Acetabularia.

Untersucht wurde der Einfluß verschiedener Lichtintensitäten auf das Wachstum und die Entwicklung von A.clift und A.cal .

Längenwachstum, Hut- und Cystenbildung bei *A.cliftonii*

Die erste Versuchsserie mit *A.clift* wurde mit Beleuchtungsstärken von 50 - 3400 Lux (12 h Licht/12 h Dunkel über maximal 80 Wochen durchgeführt. Die Ausgangslänge betrug 10 mm. Die Versuchsergebnisse sind in Tab. 3 zusammengefaßt.

Die bei 50 Lux gehaltenen Zellen zeigten kein gleichmäßiges Wachstum. Der Durchmesser der neu auswachsenden Zellteile war etwa um die Hälfte geringer, während die Zellen bei allen anderen Beleuchtungsstärken ihren Durchmesser nicht verminderten. Stagnierendes Wachstum und scheinbarer Rückgang der Länge, ist dadurch zu erklären, daß die Vorderteile einiger Zellen abfielen und so den Mittelwert drückten. Die ab 250 Lux bei ausgewachsenen Zellen beobachtete Abnahme hat eine andere Ursache. Hier handelt es sich um ein "Schrumpfen" der Stiellänge die schon von BETH (1955) beobachtet wurde. Die Abnahme des Mittelwerts für das Zellkollektiv um 1 mm, kann bei der Einzelzelle ein Schrumpfen um bis zu 5 mm bedeuten.

Die Zell-Länge ist in allen Fällen von der Beleuchtungsstärke abhängig (Abb. 1-3), wobei eine Darstellung im Sinne einer Poisson-Verteilung möglich ist. Die Maximallänge, Länge bei Hut- und bei Cystenbildung sind direkt korreliert bzw. z.T. identisch. Die Maximallänge bei sehr schwachem Licht (50 - 200 Lux) und sehr starkem Licht (3400 Lux) ist sehr ähnlich, beruht aber auf verschiedenen Ursachen. Im ersten Fall ist sie bedingt durch die Herabsetzung der Wachstumsrate, im zweiten Fall durch schnelleren Abschluß des Lebenszyklus der Zelle.

In den Abb. 4-6 ist das Erreichen von Länge, Hut- und Cystenbildung in Abhängigkeit von der Beleuchtungsstärke dargestellt. Dieser Zeitpunkt nähert sich mit steigender Beleuchtungsstärke einem Grenzwert und zeigt einen etwa hyperbelartigen Verlauf. Trotz anderer Kurvencharakteristik als in Abb. 1-3 sind auch hier die Stiellänge, Hut- und Cystenbildung miteinander korreliert, bedingt durch die direkte Abhängigkeit der Zell-Länge von der Zeit.

Die spezifischen, morphogenetischen Leistungen von *A.clift* lassen sich in ihrer Abhängigkeit von der Beleuchtungsstärke folgendermaßen darstellen (Abb. 7).

t [w]	E [lx] (12/12 h Licht/Dunkel)											
	50	250	500	400	500	800	1000	1350	1450	1900	2000	3400
0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
1	11.7	11.7	12.0	11.5	12.1	12.1	12.9	12.4	12.5	13.4	13.0	13.2
2	14.7	18.1	18.1	17.4	19.4	19.1	21.2	19.8	19.2	20.8	21.3	21.2
3	16.2	23.4	23.2	22.6	26.9	25.6	30.7	29.6	27.4	31.7	33.4	31.3
4	18.4	27.9	28.6	26.2	32.2	31.8	40.5	38.3	35.8	41.7	41.8	42.2
5	18.4	30.6	32.7	30.9	38.4	40.9	49.0	47.7	44.8	47.2	51.0	52.8
6	19.2	35.9	37.8	35.3	45.2	49.8	57.8	57.7	53.6	64.3	63.5	60.4
7	19.5	37.9	39.6	37.3	49.5	60.5	70.9	69.5	65.3	74.2	79.1	64.2
8	19.8	43.0	44.8	42.1	55.8	75.9	86.0	82.8	79.1	90.3	86.4	68.4
9	19.1	46.1	49.3	45.2	65.6	80.3	96.0	87.7	H1	H4	91.0	65.4
10	20.0	54.0	57.4	51.6	74.2	94.8	109	H2	82.0	94.0	91.0	65.4
11	20.9	60.5	62.9	57.8	83.8	105	114	50H	98.9	95.3	91.0	67.4
12	20.5	66.3	70.5	64.2	92.0	115	125	H1	99.1	99.1	97.2	66.8
13	20.3	71.4	74.3	70.0	101	126	125	50H	102	101	91.0	64.9
14	20.6	77.0	78.2	74.6	116	137	133	C3	50H	C5	89.5	98.0
15	20.9	82.4	79.4	79.3	122	141	126	C5	100	89.5	98.0	68.7
16	21.0	87.2	89.8	85.0	132	147	136				50C	
17	22.0	90.7	97.0	90.5	144	145	141	50H			50C	
18	21.9	99.5	101	98.3	152	155	137	50C			50C	
19	22.5	101	106	99.9	159	157	133	C1				
20	22.4	107	112	108	170	160	137	C, CS				
21	23.3	105	116	112	175	163						
22	23.3	113	118	113	179	154						
23	23.4	115	120	117	185	153						
24	23.8	120	124	122	188	C3CS6=50C						
25	23.7	123	127	-	194	157						
26	25.5	124	129	136	197	156						
27	25.2	129	133	136	200	159						
28	25.5	132	136	139	201	157						
29	27.8	137	140	144	203							
30	28.9	141	151	149	204							
31	30.9	144	156	156	205							
32	31.4	155	163	158	206							
33	34.3	161	165	158	207							
34	34.9	166	169	159	207							

Tab. 3

Abhängigkeit des Wachstums (mm) bei A.cliftonii von der Beleuchtungsstärke E (lx)

H1...H4
1.,...4. Zelle mit Hut

50H
50 % der Zellen mit Hut

C1...C6
1.,...6. Zelle mit Cysten im Hut

CS
Cysten im Stiel

CSH
Cysten im Stiel und Hut

50C, 50CS...
50 % der Zellen mit Cysten im Hut, im Stiel...

Weiterführung der Tabelle s. nächste Seite !

t [W]	E [lx]				
	50	250	300	400	500
35	36.3	170	174 H3	159	208
36	37.9	175	175 50H,CS1	161	207
37	38.3	177 H2	177	159 50CSCSH	206
40	39.0	178 30CS	178 CS3	161	
44	39.6	178	178	161	
52	40.7	177	177		
54	41.6	177			
64	52.7				
80	54.0				

Tab. 3 , Fortsetzung

30CS

30 % der Zellen mit Cysten im Stiel

Ab Woche 37 sind nur charakteristische Meßwerte angegeben, z.B. immer der letzte Meßtag eines Versuchs, d.h. das Ende des Lebenszyklus einer Zelle.

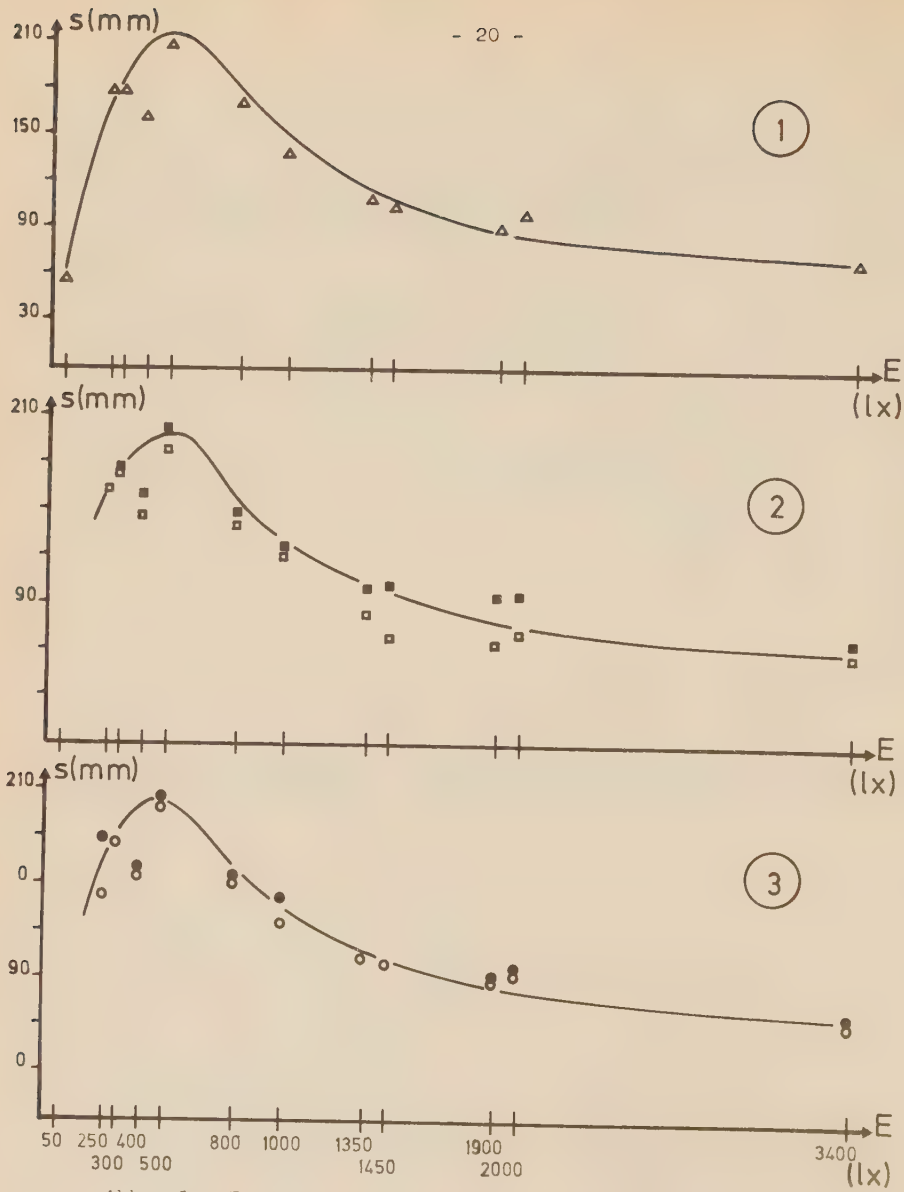


Abb. 1 - 3

Längenwachstum und Entwicklung von *A. clift*-Zellen mit der Ausgangslänge 10 mm bei verschiedenen Beleuchtungsstärken

1. Maximallänge in Abhängigkeit von der Beleuchtungsstärke E
2. Zell-Länge bei Hutbildung
3. Zell-Länge bei Cystenbildung

□ 1. Hut bzw. 1. Hüte,
○ 1. Cyste bzw. 1. Cysten,

■ 50 % Hutbildung

● 50 % Zellen mit Cysten

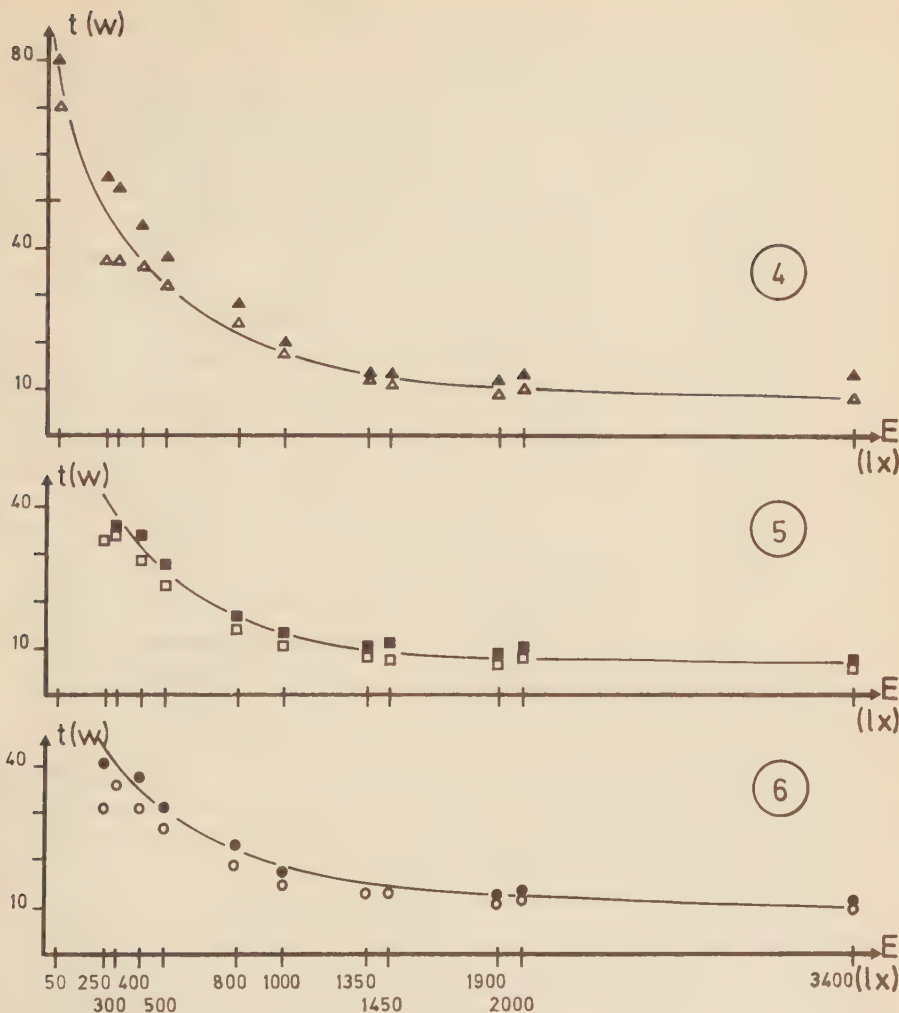


Abb. 4 - 6

Zeitliche Abhängigkeit des Wachstums und der Entwicklung von *A. clifti*-Zellen mit der Ausgangslänge 10 mm von verschiedenen Beleuchtungsstärken E

4. Lebensdauer in Abhängigkeit von der Beleuchtungsstärke
 Δ Erreichen der Maximallänge, $\blacktriangle$ maximale Lebensdauer
 5. $\square$ Zeitpunkt der 1. Hutbildung, $\blacksquare$ 50 % Hutbildung
 6. $\circ$ Zeitpunkt der 1. Cysten, $\bullet$ 50 % Zellen mit Cysten

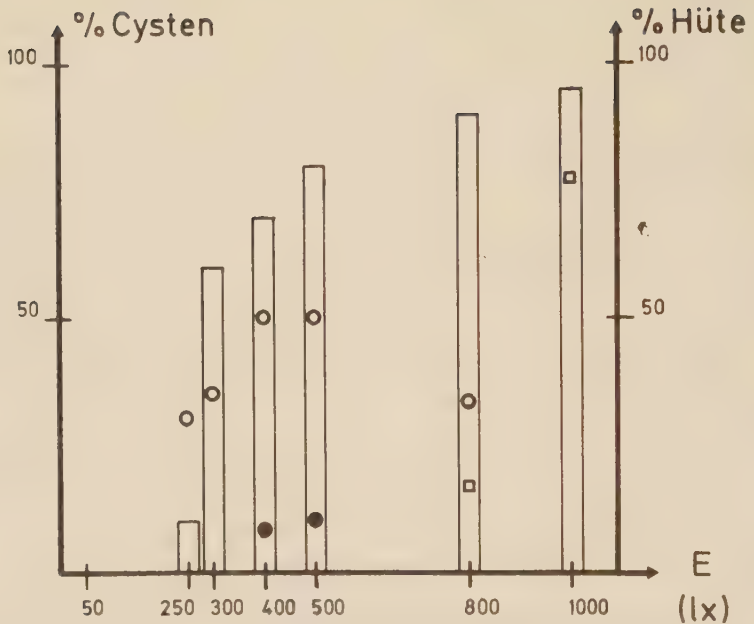


Abb. 7

Cysten- und Hutbildung bei *A. clift* in Abhängigkeit von der Beleuchtungsstärke E

Die Hutbildung wird durch Säulen angegeben

- Cysten nur im Stiel
- Cysten im Stiel und im Hut
- Cysten nur im Hut

Bei geringen Beleuchtungsstärken werden Cysten ausschließlich im Stiel gebildet. Etwa gebildete Hüte bleiben steril. Bei etwas höheren Beleuchtungsstärken werden zwar verhältnismäßig viele Hüte gebildet, diese bleiben jedoch fast ausschließlich steril, die Cysten werden auch hier im Stiel gebildet. Dabei bezeichnet die Cystenbildung im Stiel und im Hut keinen Gegensatz, in gewissem Maße ist beides nebeneinander in einer Zelle möglich. Die Abhängigkeit der Cysten- und Hutbildung von der Beleuchtungsstärke läßt sich in etwa wie folgt gliedern.

1. Keine Cysten- und Hutbildung; nur geringes Stielwachstum.
2. Cystenbildung nur im Stiel; keine Hutbildung. Dieses Stadium ist hypothetisch. Es wird für eine Beleuchtungsstärke $50 < 250$ Lux angenommen.
3. Cystenbildung nur im Stiel; Hutbildung möglich, jedoch auch dann nur Cystenbildung im Stiel.
4. Hutbildung; nachfolgende Cystenbildung ausschließlich im Stiel.
5. Hutbildung; nachfolgende Cystenbildung fast ausschließlich im Stiel, in geringem Maße auch im Hut.
6. Hutbildung; Cystenbildung nur im Hut oder in noch größerem Maße nur im Stiel.
7. Hutbildung; Angleichung von reiner Hut- bzw. Stielcystenbildungsrate.
8. Hutbildung; Cystenbildung ausschließlich im Hut.

Die Berechnung der jeweils benötigten Lichtmenge, d.h. $E \times t$, Beleuchtungsstärke $\times$ Zeit, für bestimmte Leistungen von A. clift bei den verschiedenen Beleuchtungsstärken, ergibt kein einheitliches Bild (Tab. 4).

Tab. 4 Berechnung der Lichtmenge $E \times t$, Beleuchtungsstärke $\times$ Zeit, ($lx \cdot w \cdot 10^3$) bis zur Hutbildung, Cystenbildung und für die gesamte Lebensdauer der Zellen von A.clift

E (lx)	50	250	300	400	500	800	1000	1350	1450	1900	2000	3400
t_{50H} (w)	-	-	36	34	28	17	13	10	11	9	10	7
t_{50C} (w)	-	40 _{30%}	-	37	31	23	17	-	-	12	13	10
t_{max} (w)	80	54	52	44	38	28	20	13	13	13	13	13
$E \times t_{50H}$ ($lx \cdot w \cdot 10^3$)	-	-	11	13	14	13	13	14	16	17	20	24
$E \times t_{50C}$ ($lx \cdot w \cdot 10^3$)	-	10	-	15	16	18	17	-	-	23	26	34
$E \times t_{max}$ ($lx \cdot w \cdot 10^3$)	4	14	16	18	19	22	20	18	19	25	26	44

E - Beleuchtungsstärke

t_{50H} - Zeit bis zur Ausbildung von Hüten bei 50 % der Zellen

t_{50C} - Zeit bis zur Ausbildung von Cysten bei 50 % der Zellen

t_{max} - Maximale Lebensdauer der Zellen

Tageslänge jeweils 12 h, d.h. $1 w \hat{=} 84$ Lichtstunden

Allen Versuchen gemeinsam ist, daß Zellen die bei geringerer Beleuchtungsstärke aufwachsen, eine geringere Lichtmenge zum Erreichen gleicher morphogenetischer Leistungen benötigen, als Zellen bei höherer Beleuchtungsstärke. So ist z.B. die maximale Lebensdauer $t_{\max}$ und damit die Lichtstundenzahl (BETH) aller Zellen von 1350 - 3400 Lux konstant.

Differenzbildungen, z.B. (Lichtmenge der maximalen Lebensdauer der Zellen $E \times t_{\max}$ - Lichtmenge bis zur Ausbildung von 50 % der Hüte $E \times t_{50H}$) führen zu konstanteren Werten (Tab. 5)

Tab. 5 Differenzbildungen aus verschiedenen Lichtmengen zum Erreichen bestimmter, morphogenetischer Leistungen gemäß Tab. 4

E (lx)	50	250	300	400	500	800	1000	1350	1450	1900	2000	3400
$E \times t_{50C}$	-	-	-	2	2	5	4	-	-	6	6	10
$E \times t_{50H}$	-	-	-	2	2	5	4	-	-	6	6	10
$E \times t_{\max}$	-	4	-	3	3	4	3	-	-	2	0	10
$E \times t_{50C}$	-	-	-	2	2	5	4	-	-	6	6	10
$E \times t_{\max}$	-	-	5	5	5	9	7	4	3	8	6	20
$E \times t_{50H}$	-	-	5	5	5	9	7	4	3	8	6	20
$(lx \cdot w \cdot 10^3)$												

D.h., hier kompensieren sich z.T. kurze Zeiten und hohe Beleuchtungsstärken und umgekehrt. Inwieweit hiervon ein konstanter Lichtbedarf für unterschiedliche, morphogenetische Leistungen abgeleitet werden kann, ist zu diskutieren.

Weiterhin zeigt die folgende Zusammenstellung (Tab. 6), daß zum Erreichen der Maximallänge für Beleuchtungsstärken von 500 - 1900 Lux die benötigte Lichtmenge etwa konstant ist.

Tab. 6 Berechnung der bis zum Erreichen der Maximallänge $s_{\max}$ benötigten Lichtmenge

E (lx)	50	250	300	400	500	800	1000	1350	1450	1900	2000	3400
$t_{s \max} (w)$	80	40	40	34	33	24	17	13	12	9	13	8
$E \times t_{s \max}$	4	10	12	14	17	19	17	18	17	17	26	27
$(lx \cdot w \cdot 10^3)$												

$t_{s \max}$ = Zeit bis zum Erreichen der Maximallänge

Die zweite Versuchsserie mit A.clift wurde mit Beleuchtungsstärken von 85 - 3400 Lux (12 h Licht/12 h Dunkel) über maximal 16 Wochen durchgeführt. Die Ausgangslänge der Zellen betrug 3-20 mm. Die Versuchsergebnisse sind in Tab. 7 zusammengefaßt.

Tab. 7 Abhängigkeit des Wachstums (mm) bei A.clift (unterschiedliche Ausgangslängen) von der Beleuchtungsstärke E (lx)

t [w]	E [lx] (12/12 h Licht/Dunkel)											
	85	250	250	300	500	800	1000	1400	1500	2000	2350	3500
0	10.0	3.6	20.0	12.1	14.2	10.0	5.0	10.0	6.0	7.0	20.0	7.1
1	12.2	5.1	22.8	13.8	17.1	12.6	6.0	12.1	7.0	12.4	23.9	12.5
2	13.8	5.1	27.6	15.4	23.2	21.1	9.0	20.9	9.5	18.5	34.6	18.6
3	14.3	6.1	32.2	17.0	27.9	28.1	11.2	25.9	12.6	24.2	39.9	23.7
4	17.8	6.7	37.6	24.4	31.0	35.3	18.1	30.0	12.7	30.4	45.0	29.0
5	19.0	7.2	36.4	20.8	30.6	37.3	18.8	34.9	13.4	42.6	50.0 H1 40W	42.3
6	17.8	6.8	39.6	20.8	35.8	41.5	21.2	39.0	17.5	54.2	52.8	52.0
7	19.1	7.9	42.3	21.5	42.8	49.4	24.4	48.4	21.4	67.9 H1	55.0 50H	62.0 H1
8	19.4	8.1	45.0	22.6	46.2	55.6	30.9	58.8	24.3	70.8 50H	58.2 50H	67.0 50H
9	19.9	9.3	52.7	24.2	50.8	68.2	43.4	72.0	28.9	78.3	59.6	68.0
10	19.4	9.0	56.3	29.5	56.7	74.6	48.8	84.7	31.3	----	62.5	----
11	20.4	9.3	61.5	29.4	64.0	80.2	55.0 H4	92.4 H4	37.1	----	64.0 C4	----

H1, H4 - 1 bzw. 4 Zellen mit Hut
 50H - 50 % der Zellen mit Hut
 C4 - 4 Zellen mit Cysten
 40W - 40 % der Zellen mit Wirtel

Im Unterschied zum vorherigen Experiment, wurde hier mit Zellen unterschiedlicher Ausgangslänge gearbeitet. Vergleichbar sind die Wachstumsraten von Zellen die bei etwa gleicher Beleuchtungsstärke gehalten wurden (Tab. 8, Abb. 8).

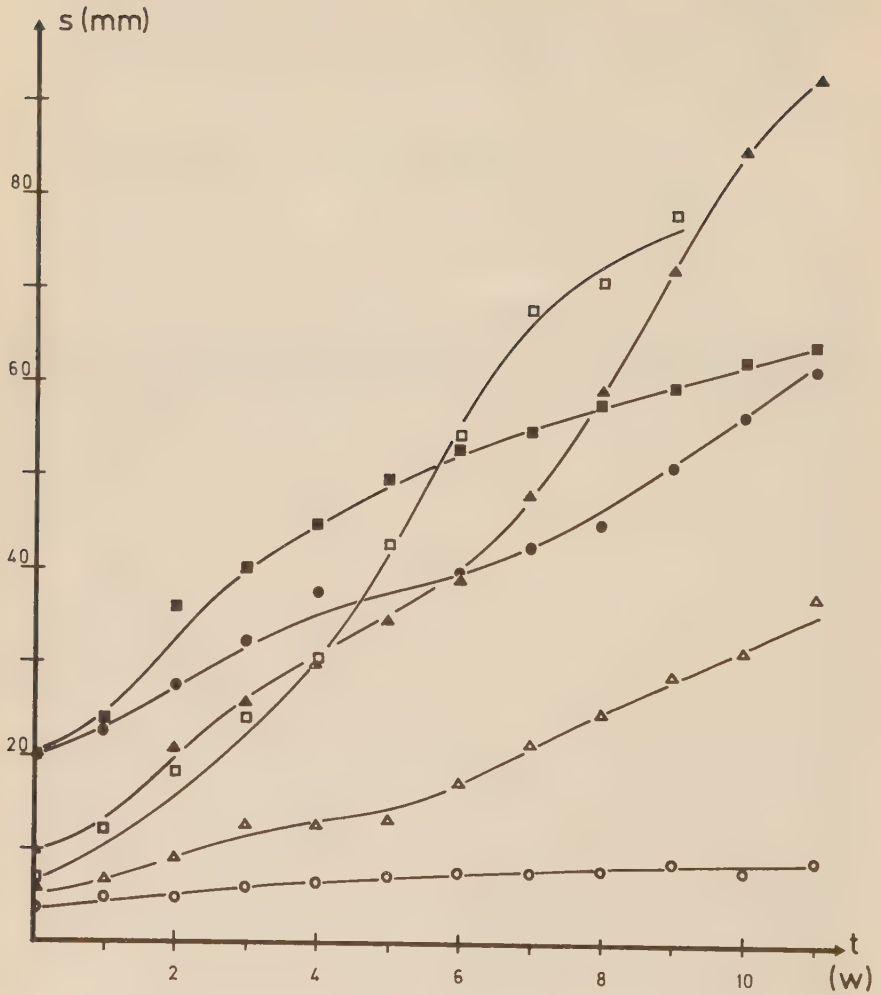


Abb. 8

Wachstumskurven von *A. clift* in Abhängigkeit von der Zeit und der Beleuchtungsstärke

E (lx)	250	250	1500	1400	2000	2350
Ausgangslänge (mm)	3.6	20.0	6.0	10.0	7.0	20.0
Symbol	○	●	△	▲	□	■

Tab. 8 Vergleich der Wachstumsraten von Zellen unterschiedlicher Ausgangslänge bei etwa gleicher Beleuchtungsstärke

Ausgangslänge (mm)	Beleuchtungsstärke (lx)	Wachstumsfaktor F_s (Endlänge : Ausgangslänge)		
		0-5 w	5-10 w	0-10 w
3.6	250	2.0	1.3	2.5
20.0	250	1.8	1.5	2.8
6.0	1500	2.2	2.3	5.2
10.0	1400	3.5	2.4	8.5
7.0	2000	6.1	1.8	11.2
20.0	2350	2.5	1.3	3.1

Zur Erfassung der Wachstumsleistungen wird ein Längenwachstumsfaktor F_s eingeführt. Er wird definiert als Quotient aus End- und Ausgangslänge. Bei geringen Beleuchtungsstärken ist die Wachstumsrate kleiner und größer Zellen etwa gleich. So ist z.B. $F_s(250 \text{ lx})$ für 3.6 mm lange Zellen nach 5 Wochen 2.0 und für 20 mm lange Zellen 1.8. Die Wachstumsrate nimmt für beide Zelltypen mit zunehmender Größe (Alter) ab (Hutbildung als Störgröße entfällt in diesen Experimenten). $F_s(250 \text{ lx})$ für 3.6 mm lange Zellen verringert sich für den Zeitraum von 5 - 10 Wochen auf 1.3 und für 20 mm lange Zellen auf 1.5.

Bei einer Beleuchtungsstärke von 1450 Lux ist die Wachstumsrate längerer Ausgangszellen in den ersten 5 Wochen größer ($F_s = 3.5$) als bei kürzeren Ausgangszellen ($F_s = 2.2$). Dieser Unterschied gleicht sich in den anschließenden 5 Wochen (5. - 10. Woche) aus; $F_s(10 \text{ mm-Zellen}) = 2.4$, $F_s(6 \text{ mm-Zellen}) = 2.3$.

Bei Beleuchtungsstärken von etwa 2200 Lux ist die Wachstumsrate kurzer Ausgangszellen immer größer als bei längeren, fällt jedoch auch im Intervall 5-10 w stark ab, fast bis auf den Wert der ursprünglich längeren Zellen.

Bei der Beurteilung der Befunde bei 1450 Lux ist zu beachten, daß die dort "langen Zellen" mit 10 mm Ausgangslänge um die Hälfte kürzer als die übrigen "langen Ausgangszellen" sind. Daher ist zusammenfassend die Aussage möglich, daß in den ersten 5 Wochen nach Einbringen verschieden langer Zellen in unterschiedliche Lichtbedingungen, die Wachstumsrate "kurzer"

Zellen stärker lichtabhängig als "längerer" Zellen ist. Diese Lichtabhängigkeit nimmt mit steigender Beleuchtungsstärke zu. Die Wachstumsrate längerer Zellen bleibt etwa konstant. Bei allen Zellen fällt die Wachstumsrate nach längerer Zeit (5 - 10 w) stark ab, auch wenn die normale Endlänge dieser Spezies noch nicht erreicht ist.

Längenwachstum, Wirtel-, Hut- und Cystenbildung bei *A. calyculus*

Die Versuchsserie mit *A.cal* wurde mit Beleuchtungsstärken von 240 - 3400 Lux (12 h Licht/12 h Dunkel und Dauerlicht) über maximal 75 Wochen durchgeführt. Die Ausgangslänge der Zellen betrug 8 - 12 mm. Die Versuchsergebnisse sind in Tab. 9 zusammengefaßt.

Die Wachstumskurven von *A.cal* (Abb. 9 und 10) unterscheiden sich von den *A.clift*-Kurven (Abb. 1 - 6). Die Maximallänge bei *A.cal* ist nicht in Art einer Poissonverteilung von der Beleuchtungsstärke abhängig. Zwar fehlen Werte für 50 Lux, bei *A.clift* ist jedoch schon ab 400 Lux ein Abfall zu kürzeren Maximallängen erkennbar. Weiterhin beeinflussen unterschiedliche Beleuchtungsstärken im mittleren Bereich von 700 - 2000 Lux die Maximallänge geringer als bei *A.clift*. Da bei den geringen Beleuchtungsstärken eine Hutbildung für 50 % der Zellen nicht zu beobachten war, mußte der Zeitpunkt der ersten Hutbildung herangezogen werden. Das erklärt die großen Unterschiede zwischen der Länge bei der Anlage des 1. Hutes und der Endlänge.

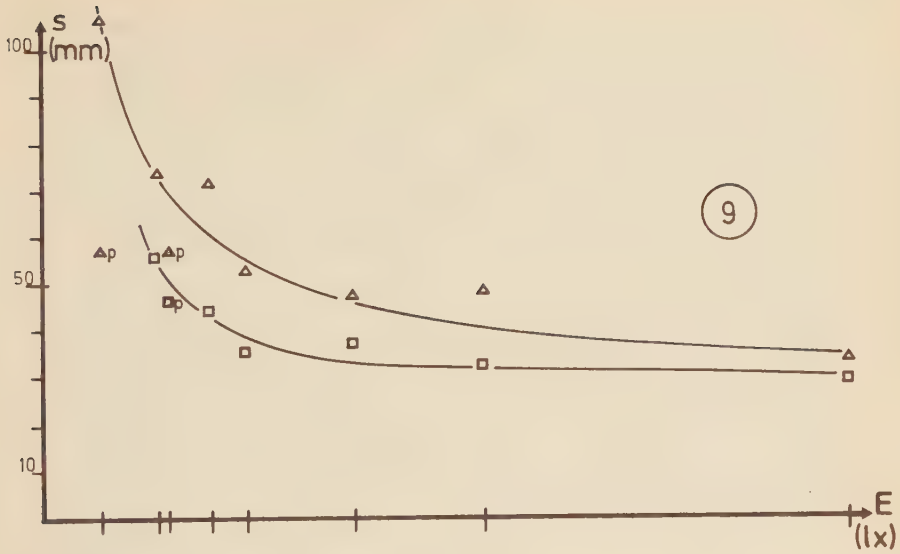
Cysten- und Hutbildung stehen nicht so klar wie bei *A.clift* in Beziehung zur Beleuchtungsstärke. Die Befunde decken sich jedoch etwa. Auch bei *A.cal* können bei geringen Beleuchtungsstärken Cystenbildungen im Stiel bei vorhandenem sterilem Hut und Cystenbildungen gleichzeitig in Hut und Stiel vorkommen. Die Beleuchtungsstärken für diese morphogenetischen Leistungen sind für beide Spezies etwa gleich.

Gleiche Lichtmengen haben unterschiedliche Wirkungen (Abb. 9). Dauerlicht von 240 Lux setzt die Maximallänge von Zellen signifikant herab (auf 57 mm gegenüber 106 mm bei 240 Lux 12/12 h), sogar wesentlich unter den Wert bei 480 Lux und 12/12 h Licht/Dunkel. Andererseits stimmt die Maximallänge bei 240 Lux Dauerlicht mit der 520 Dauerlicht etwa überein, die doppelte Lichtmenge hat hier den gleichen Effekt. Daraus läßt sich folgern, "daß nicht allein die Gesamtlichtmenge entscheidend ist" (BETH 1955 b), sondern auch der Beleuchtungsrhythmus einen großen Einfluß hat. Die Beleuchtungsstärke erscheint dagegen von geringerer Bedeutung.

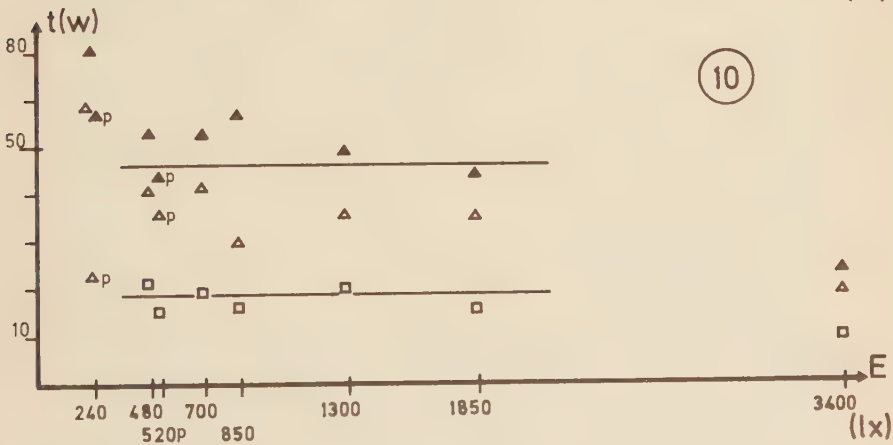
E

Tab. 9 (12/12 h Licht/dunkel; P = Dauerlicht)

	t										
	[W]	240	240 P	480	520 P	700	850	1300	1050	3400	
Abhängigkeit des Wachstums (mm) und der Wirtszahl (zweite Zahl in jeder Spalte) bei A.calyculus von der Beleuchtungsstärke E (lx)		0 10.9 0.8	12.3 0.8	12.6 1.3	11.0 0.8	11.7 0.5	11.0 0.7	10.2 0.4	8.0 0.1	9.0 0.2	
H ₁ , H ₂ , H ₃		1 11.3 0.2	15.1 0.4	14.1 0.5	11.6 0.1	12.3 0.3	11.2 0.3	11.5 0.1	8.0 0.1	11.4 0.9	
Eine, ..., drei Zellen mit Hut		2 13.4 0	17.2 0.1	16.9 0	14.9 0.1	15.7 0	16.6 0.3	14.9 0.3	9.1 0.4	0.716 5.20	
50%		3 14.4 0	19.1 0	20.1 0	16.9 0.1	16.9 0	16.4 0.5	18.2 0.3	9.1 0.4	1.219 6.20	
50% der Zellen mit Hut		4 15.2 0	20.1 0	22.5 0	18.9 0.7	18.7 0	19.9 0.5	21.8 0.4	1.176 4.1	1.421 1.9 3.5	
Gl, ..., C3		5 15.4 0	21.2 0	24.2 0.9	20.0 0.9	21.8 0.2	20.8 0.9	23.0 1.3	1.371 1.2	1.223 2.3 3	
1, ..., 3. Zelle mit Cysten im Hut		6 16.6 0	24.0 0	25.8 1.4	25.3 1.2	23.8 0.4	22.6 1.1	22.6 1.1	1.518 2.1	1.424 1.9 3.4	
CS		7 16.6 0	25.0 0	27.6 1.1	24.8 0.9	24.6 0.6	22.9 0.7	23.8 1.3	1.417 1.9	0.825 4.9 3.5	
Cysten im Stiel		8 17.6 0	26.1 0	28.1 0.3	26.6 1.1	25.8 1.0	23.3 0.9	24.1 1.2	1.420 1.1	1.327 1.3 2	
CSH		9 18.1 0	28.1 0.3	30.9 1.7	28.2 2.1	26.6 1.0	25.2 1.7	25.2 1.7	1.621 1.8	1.29 1.3 9	
Cysten im Stiel und Hut		10 19.3 0	31.1 0.5	32.2 1.4	31.1 2.9	27.4 1.0	26.7 2.1	26.4 1.4	1.423 3.8	2.430 2.4 2	
Gl, ..., G4		11 18.6 0	32.1 1.2	35.3 1.8	32.2 3.4	27.8 1.4	26.9 2.4	27.3 1.7	1.704 2.8	1.430 5.4 1	
1, ..., 4. Zelle aufgespalten ("verzweigt")		12 21.4 0.2	35.1 1.3	35.3 1.7	37.4 4.6	29.9 1.6	28.6 2.8	26.7 1.6	1.625 7.3	3.452 2.3 1	
Ab Woche 30 sind nur charakteristische Meßwerte angegeben; meist der letzte Meßtag eines Versuchs, d.h. das Ende des Lebenszyklus der Zellen unter den entsprechenden Bedingungen.		13 21.0 0.2	36.9 1.9	34.5 1.1	40.6 5.0	29.7 1.1	29.2 2.3	29.1 0.9	1.926 0.1	2.631 1.9 3.7	
		14 21.7 0	41.3 2.4	38.0 1.7	42.8 5.6	32.5 1.7	31.9 2.9	30.3 1.2	1.429 0.2	2.932 3.2 8	
		15 23.1 0	43.7 2.4	42.2 2.9	45.6 5.2	35.2 2.9	34.7 4.0	32.7 2.1	1.352 2.7	4.032 9.2 4	
		16 25.0 0	45.0 2.6	44.5 3.8	46.8 5.7	36.3 3.8	35.3 4.4	33.8 2.6	1.632 8.4	4.233 3.3 2	
		17 25.2 0.6	45.8 2.7	49.3 4.0	48.8 7.3	41.7 3.8	36.3 4.5	34.7 3.1	1.54 0.1	5.153 4.2 0	
		18 27.6 0.6	46.6 2.8	50.4 5.4	52.7 6.6	42.2 5.2	37.1 4.4	34.9 4.9	1.435 1.1	4.933 7.1 7	
		19 29.2 0.3	50.3 2.7	52.3 5.0	54.2 4.8	43.5 5.0	39.9 4.0	36.4 3.1	1.355 2.7	5.734 1.1 8	
		20 30.7 0.1	51.5 3.1	53.0 5.2	54.3 5.2	45.5 5.7	39.4 2.7	36.7 3.1	1.376 5.4	4.234 0.1 4	
		21 31.6 0.3	56.4 2.7	55.0 4.9	54.3 4.0	47.5 6.3	39.5 2.9	36.9 1.7	1.737 3.2	2.034 4.1 0	
		22 32.0 0	56.7 1.5	58.4 2.8	54.3 3.2	49.0 3.2	40.0 1.5	36.0 1.4	1.438 4.1	1.934 2.0 4	
		23 32.2 0	57.0 0.9	60.3 1.2	54.4 1.0	50.6 1.2	40.7 0.3	35.6 1.1	1.339 2.1	1.834 3.0 4	
		24 35.5 0.1	53.5 0.8	62.1 1.1	54.3 1.1	53.9 1.6	41.4 0.6	39.2 1.0	1.039 5.1	1.0	
		25 38.5 0	53.5 0.8	64.2 1.5	55.0 1.2	57.2 1.6	44.3 1.3	39.7 2.0	1.041 2.1	1.6	
		26 42.6 0	53.6 1.0	66.2 1.9	55.0 1.6	62.3 2.3	52.5 2.9	42.5 2.8	1.43 5.5	2.6	
		27 43.6 0	53.4 1.0	67.1 1.2	55.2 0.6	63.9 2.0	48.5 3.0	42.9 3.4	1.84 0.2	1	
		28 45.4 0	54.4 0.9	68.0 2.2	55.6 1.0	65.4 2.4	50.3 3.0	44.5 3.0	1.045 2.2	2.6	
		29 46.8 0	54.4 0.6	68.0 2.0	54.3 0.9	65.4 2.0	50.3 2.2	44.4 2.8	1.245 2.1	1.6	
		30 47.7 0	54.0 0.6	68.7 2.1	53.3 0	66.0 2.3	51.5 2.0	44.6 2.8	1.845 1.6	3.6	
		35 57.3 0	53.3 3.4	69.5 0	56.3 2.7	66.8 0.2	52.6 0.5	45.6 1.4	1.946 6.2	1.0	
		34 63.8 0.5	52.3 0	73.8 0	56.8 0	67.8 0	51.4 0	47.1 0	46.9 0		
		35 53.4 3.2	52.2 0	73.7 0	63.9 0	69.9 0	50.7 0	45.8 0			
		36 50.1 0	52.0 0	72.7 0	63.7 0	69.7 0	50.9 0				
		37 40.4 0	51.7 0								
		38 40.6 0	51.7 0								



9



10

Abb. 9

Abhängigkeit der Maximallänge von der Beleuchtungsstärke E
 $\triangle$ Maximallänge, $\square$ Bildung des 1. Hutes

Abb. 10

Abhängigkeit der Lebensdauer von der Beleuchtungsstärke E
 $\triangle$ Maximallänge erreicht, $\square$ 1. Hut gebildet
 $\blacktriangle$ maximale Lebensdauer

Der Index "p" kennzeichnet die Werte von Versuchen im Dauerlicht. Sonst 12/12 h Licht/Dunkel.

Die Lebensdauer und der Zeitpunkt der 1. Hutbildung von *A. cal* werden daher durch die Beleuchtungsstärke auch kaum beeinflusst (Abb. 10). Nur bei 3400 Lux liegen die Daten signifikant niedriger.

Dauerlicht wirkt bei gleicher Beleuchtungsstärke gegenüber dem 12/12 h-Wechsel auch auf den Zeitpunkt des Erreichens der Maximallänge, und damit wirkt es auch auf die Lebensdauer verkürzend (Abb. 10). Bei 240 Lux, 12/12 h Licht/Dunkel, wird die Maximallänge nach 57 Wochen erreicht, bei 240 Lux Dauerlicht dagegen schon nach 23 Wochen. Die jeweils benötigte Lichtmenge zum Erreichen der Maximallänge ist in beiden Fällen die gleiche. Für 480 Lux ließ sich dieser Zusammenhang jedoch nicht zeigen. Falls die Lichtmenge bedeutsamer ist, als es die bisher gefundenen Daten vermuten lassen, so scheint dies besonders für geringe Beleuchtungsstärken zuzutreffen.

Wachstum und Wirtelbildung bei *A. calyculus*

Wie die Durchschnittswerte in Tab. 9 zeigen, kann die Wirtelbildung innerhalb einer Population höchst heterogen sein. Auch die Qualität der einzelnen Wirtel schwankt stark, sowohl Zustand als Anzahl der einzelnen "Äste". Um so fraprierender sind die Übereinstimmungen über einen weiten Bereich unterschiedlicher Beleuchtungsstärke.

Im einzelnen ist erkennbar (Abb. 11 - 13):

Zwischen 240 und 3400 Lux ist die Wirtelbildung und ihr Zerfall ähnlich. Die Übereinstimmungen der Kurvencharakteristik reichen vielfach bis ins Detail, z.B. die regelmäßig zu findende Schulter vor dem Maximum, d.h. die stete Verzögerung maximaler Wirtelbildung.

Die Wirtelbildungsphasen zwischen 240 und 1850 Lux sind etwa gleich lang und zeigen eine verhältnismäßig gute, zeitliche Koinzidenz. So sind z.B. maximale Wirtelzahlen immer zum etwa gleichen Zeitpunkt zu beobachten.

Unterschiede im zeitlichen Ablauf gibt es bei 3400 Lux. Entsprechend der verkürzten Lebensdauer setzen die einzelnen Phasen früher ein.

Die Summe aller wöchentlich im Durchschnitt gezählten Wirtel (Wirtelsumme) beträgt für

240	Lux	4,
240	Lux, p	36,
480 - 3400	Lux	63 mit Einzelwerten von 59 - 65,
520	Lux, p	81.

Der Begriff "Wirtelsumme" ist dabei nur mathematisch definiert. Physiologisch ist völlig offen, ob es sich in den einzelnen Wochen um absterbende, neu entstehende, große oder kleine Wirtel handelt. Da sich während der gesamten Entwicklung einzelne Effekte jedoch kompensieren dürften, gibt die Wirtelsumme mindestens einen Hinweis auf die morphogenetischen Leistungen der Zellen. In Übereinstimmung mit einem möglicherweise zugrunde liegenden, konstanten Wirtelbildungsmechanismus, sind die Wirtelsummen von 480 - 3400 Lux etwa gleich. Signifikant abweichende Werte ergeben sich für schwächstes Licht bei 240 Lux und für die Versuche mit Dauerlicht bei 240 und 520 Lux.

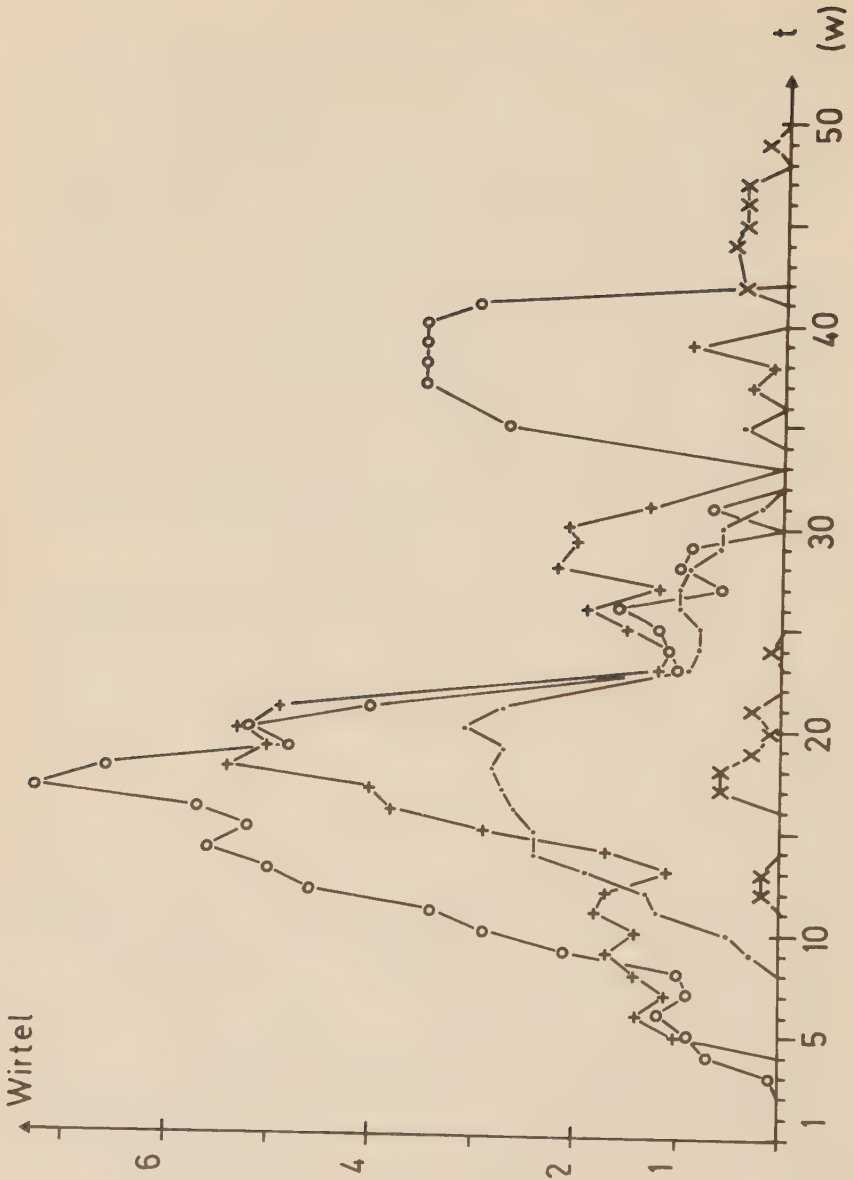


Abb. 11

Wirtelbildung bei *A. calyculus* in Abhängigkeit von der Zeit

- X 240 Lux 12/12 h Licht/Dunkel
- 240 Lux Dauerlicht
- + 480 Lux 12/12 h Licht/Dunkel
- O 520 Lux Dauerlicht

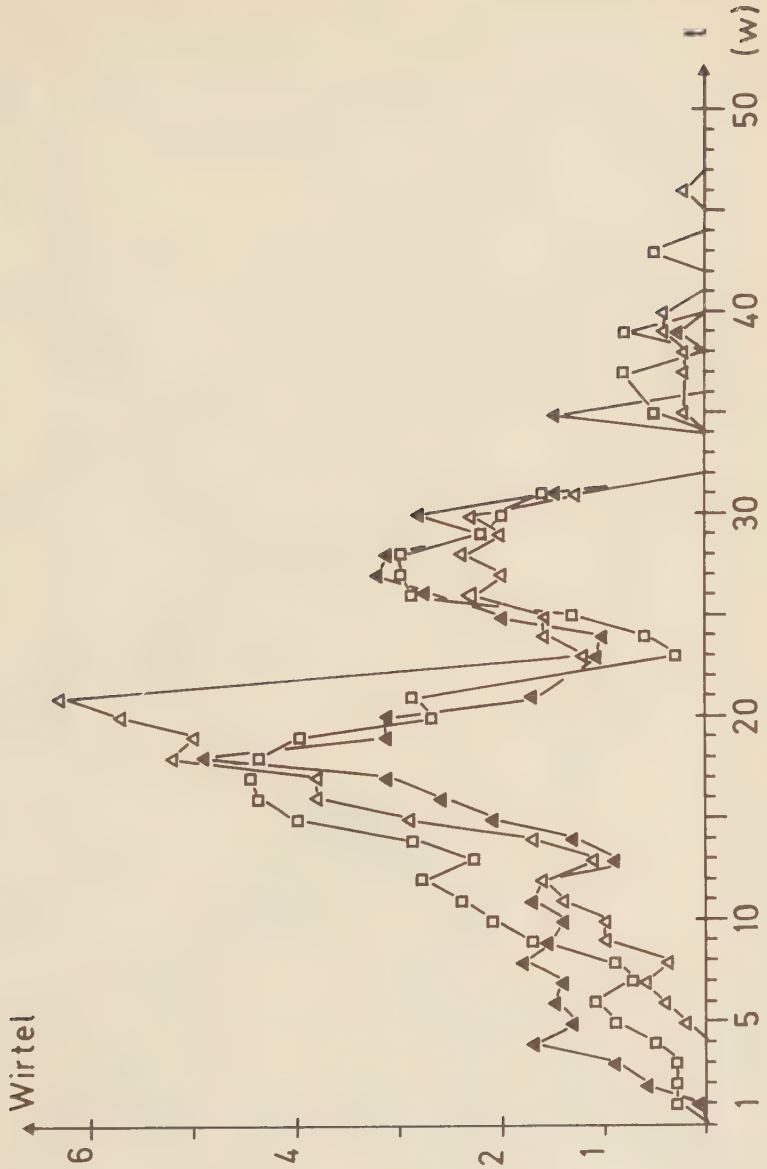


Abb. 12

Wirtelbildung bei *A. calyculus* in Abhängigkeit von der Zeit

△ 700 Lux

□ 850 Lux

▲ 1300 Lux alle 12/12 h Licht/Dunkel

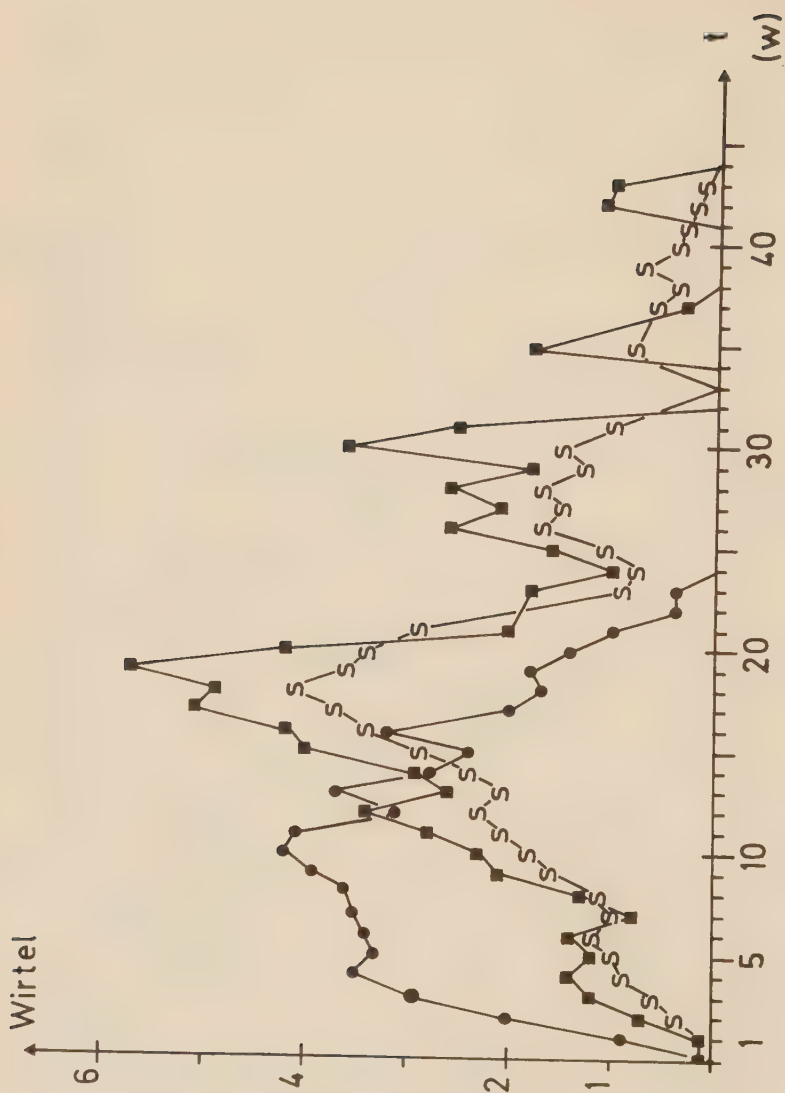


Abb. 13

Wirtelbildung bei *A. calyculus* in Abhängigkeit von der Zeit

■ 1850 Lux

● 3400 Lux beide 12/12 h Licht/Dunkel

S Mittelwertbildung aus allen Meßreihen

Da gezeigt werden konnte, daß die maximale Lebensdauer der Zellen relativ unabhängig von der Beleuchtungsstärke ist, und da viele Gemeinsamkeiten vorliegen, erscheint es möglich, ein allgemeines Schema der Wirtelbildung aufzuzeichnen (Abb. 14).

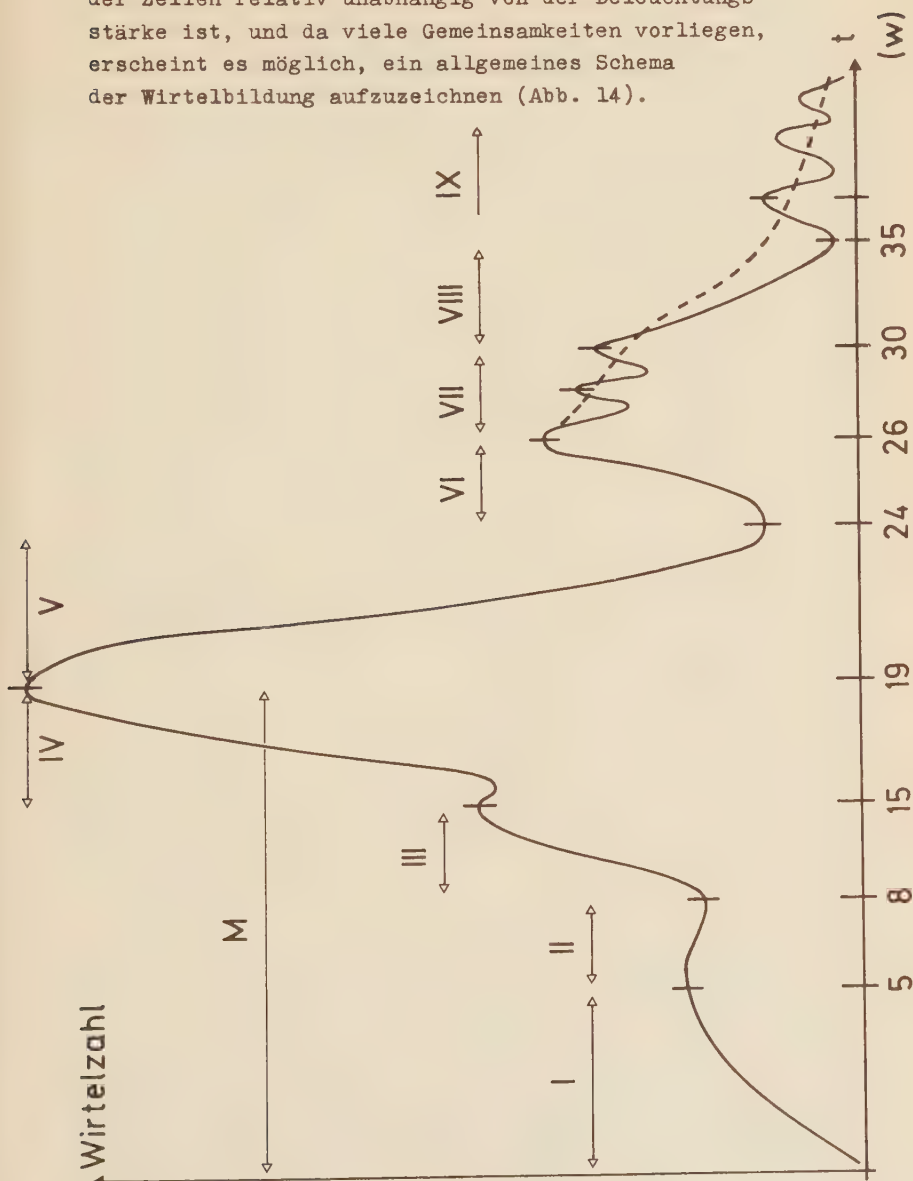


Abb. 14

Schematische Zusammenfassung der Wirtelentwicklung bei *A.cal* in Abhängigkeit von der Zeit

I - IX charakteristische Zeitintervalle

M Zeitraum bis zur Entwicklung maximaler Wirtelzahlen

Wachstum als Flächen- und Volumenzunahme

Längenzunahme ist das Vorschieben einer Zellwandröhre und damit einer Fläche, bzw. bei Berücksichtigung des umschlossenen Raumes eines Volumens. Dabei kann die gleichzeitige Zunahme des Röhrendurchmessers die Flächen- und Volumenzunahme entscheidend beeinflussen. Besonders wichtig wird diese Betrachtung mit dem Einsetzen des Hutwachstums. Der eindimensionale Zuwachs (Länge) wird dann etwa 0, während die Gesamtzelloberfläche, wie auch das Volumen weiter zunehmen. Dieser Prozeß läßt sich bis zum Erreichen maximaler Hutgröße verfolgen. Bei den anschließenden Differenzierungen bleiben die Zell-Länge und das Volumen etwa konstant. In gleichem Sinne wie die bisherigen Wachstumsleistungen als Zellwandvergrößerungen meßbar sind, lassen sie sich jedoch weiter verfolgen. So bedingt die Cystenbildung ebenfalls eine, wenn auch qualitativ unterschiedliche Zunahme von Zellwänden. Da diese im inneren gebildeten Cystenwände nach Zellzerfall nach außen treten, können sie in direktem Anschluß an die Zunahme von Zell- und Hutwänden als Wachstumsleistung gemessen werden. Die Beeinflussung dieser Verhältnisse bleibt hier zunächst unbeachtet, obwohl besonders ihre Gesamtoberfläche beachtlich ist.

Entsprechend den Messungen von TERBORGH (1964) für *A.cren* läßt sich auch für *A.clift* der Zusammenhang zwischen Zellvolumen und Zell-Länge (Zeit) darstellen (Abb. 15, Tab. 10). Die Graphik läßt für *A.clift* vor der Hutbildung drei Phasen erkennen.

- 1) Zell-Länge bis zu etwa 4 - 6 mm : $1 \Delta s \approx 5 \Delta V$,
- 2) Zell-Länge wenige mm bis etwa 2 - 3 cm : $3 \Delta s \approx 1 \Delta V$,
- 3) Zell-Länge ab etwa 4 cm : $1 \Delta s \approx 1 \Delta V$.

Die Tab. 8 ließe sich somit um Volumenfaktoren ergänzen, mit $F_V = \text{Endvolumen} : \text{Ausgangsvolumen}$ (Tab. 11).

Tab. 11 Vergleich von Volumen- Längenwachstumsfaktoren

Ausgangslänge (mm)	Beleuchtungsstärke (lx)	F_s (0-10w)	F_V (0-10w)	F_V/F_s
3.6	250	2.5	18.0	7.2
20.0	250	2.8	3.5	1.1
6.0	1500	5.2	56.0	10.8
10.0	1400	8.5	24.0	2.8
7.0	2000	11.2	75.0	6.7
20.0	2350	3.1	3.7	1.2

Tab. 10 Fläche A und Volumen V von Acetabularia-Zellen in Abhängigkeit von der Stiellänge s mit einigen Hut- und Cystendaten als Ergänzung

s [mm]	A [mm ²]	V [mm ³]
	A.clift	A.clift
5	1.4	0.03
10	6.7	0.35
15	12.8	0.86
20	17.1	1.61
25	27.7	2.40
55	60.7	5.29
60	66.2	5.77
70	72.2	6.73
80	88.2	7.69
Hut, Ø 8 mm	116.0	16.12
Gesamtcysten	130.0	(3.90)
Einzelcyste	0.1	(3.00 x 10 ⁻³)
	A.med	A.med
Hut, Ø 10 mm	160.0 + 96.6*	15.00
Gesamtcysten	455.0	(6.02)
Einzelcyste	0.065	(0.86 x 10 ⁻³)

Die Cystenvolumina sind eingeklammert, da sie keinen Realzuwachs darstellen.

* ± Fläche der Wände zwischen den Hutkammern

Obwohl der Zeitraum von 10 Wochen für die genaue Faktorenbestimmung zu lang ist, wird zumindest die große Bedeutung der Längenzunahme für die 1. Phase deutlich, die einer 5-fachen Volumenänderung entspricht. In der 2. Phase sind die Verhältnisse dagegen umgekehrt, die Volumenzunahme ist etwa dreimal so groß wie die Längenzunahme. In der 3. Phase entsprechen die Volumen- und Längenzunahme etwa einander, der Anstieg der Kurve in Abb. 15 ist linear. Die Oberflächenvergrößerung ist im wesentlichen mit der Längenzunahme korreliert.

Mit Beginn der Hutbildung ändern sich die Wachstumsverhältnisse schlagartig. Die Kurve in Abb. 15 steigt dann stark an

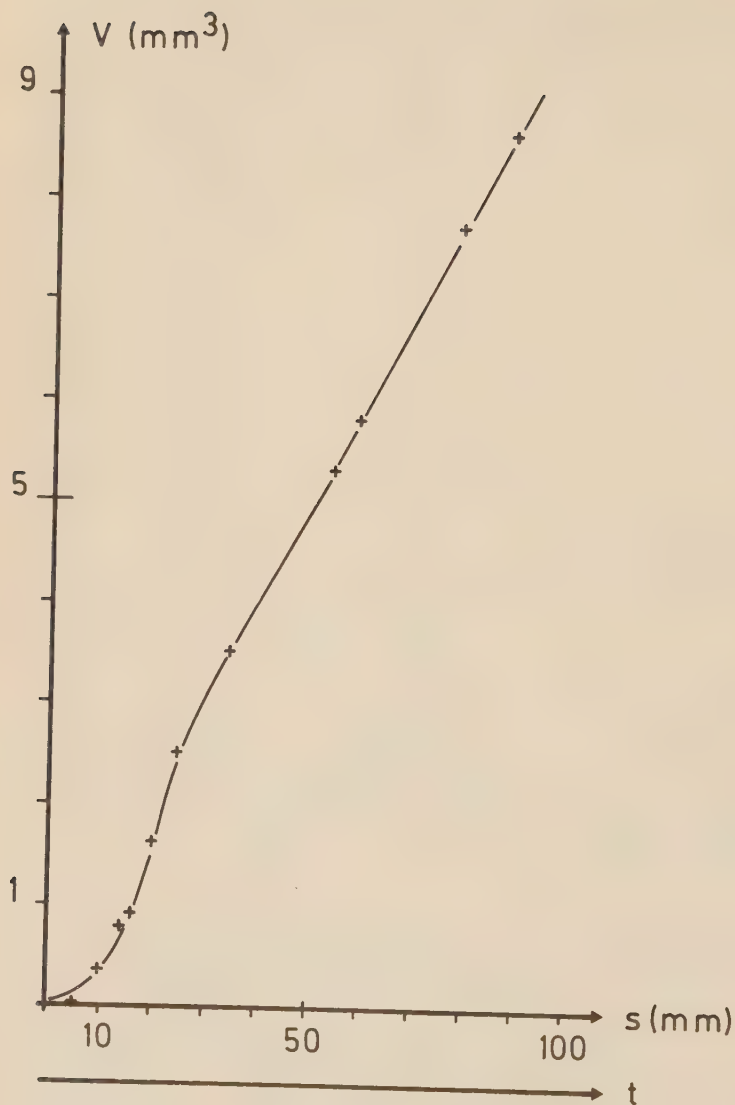


Abb. 15

Abhängigkeit des Stielvolumens bei A.clift-Zellen
von der Zell-Länge bzw. der Zeit

und zeigt bei Betrachtung der ganzen Zelle etwa folgendes Bild (Tab. 10, s.a.BONOTTO 1969); Stiel $\hat{=}$ 100 % :

A.clift,	Volumenzuwachs durch Hut	+ 100 %
	Flächenzuwachs durch Hut	+ 40 %
	Flächenzuwachs durch Cysten	+ 150 %
A.med,	Volumenzuwachs durch Hut	+ 500 %
	Flächenzuwachs durch Hut	+ 400-600 %
	Flächenzuwachs durch Cysten	+ 1100 % .

Der Volumen- und besonders der Flächenzuwachs den die Zellen durch die Hut- bzw. Cystenbildung erfahren, liegt weit über den Werten die durch die Messung des Längenwachstums erfaßbar sind. Die Unterschiede sind artspezifisch, was sich auf die unterschiedliche Gestalt und Größe des Stieles, Hutes und der Cysten zurückführen läßt.

Für die Flächenberechnung des Hutes von A.med, ergibt sich der jeweils höchste Wert bei Berücksichtigung der inneren Kammerwände.

Für die Cysten gelten etwa folgende Verhältnisse :

V-Einzelcyste	A.clift : A.med	-	3	: 1
V-Gesamtysten	clift : med	-	1	: 1.5
A-Einzelcyste	clift : med	-	1.5	: 1
A-Gesamtysten	clift : med	-	1	: 3.5 .

Da die Stiellänge, Hutgröße, Kammer- und Cystenzahl der einzelnen Zellen sehr stark variieren, sind die Daten nur grobe Mittelwerte.

Vergleichende Untersuchungen der Aufnahme radioaktiv-markierter Stoffe im Licht und im Dunkeln

1. Die Stoffaufnahme durch Cysten

Zunächst wurde mit Cysten gearbeitet, da diese leichter als Zellen zu sterilisieren sind. Daher sind sie auch eher für Experimente verfügbar. Weiterhin wurde angenommen, daß sie aufgrund ihres relativ geringen Stoffwechsels und ihrer starken Wand die unterste Grenze für etwaige Stoffaufnahmen markieren, und damit zu grundsätzlichen Aussagen führen könnten.

Sterilisierte Cysten wurden unter sterilen Bedingungen mit radioaktivmarkiertem Na-Hydrogencarbonat und Glucose in Konzentrationen von 0.3 - 3.3 $\mu\text{C}/\text{ml}$ Medium inkubiert. Junge Cysten sind Cysten mit denen kurz nach dem Hutterfall gearbeitet wurde, alte Cysten wurden etwa drei Jahre vor dem Versuch gebildet und im Dunkeln bei ca. 4-wöchigem Mediumwechsel gehalten. Zum Umsatz von $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ s. BIDWELL 1969.

Alle Cysten nehmen im Dunkeln und im Licht die angebotenen, markierten Stoffe auf.

A.clift

1. Die Aufnahme von markiertem C-14 als Hydrogencarbonat steigt mit zunehmender Zeit an. Die nach 120 min inkorporierten Mengen sind etwa proportional der Beleuchtungsstärke. Die Dunkelaufnahme ist minimal und zeitunabhängig (Abb. 16).
2. Bis zu 150 min (Kurzzeitraum) ist die Aufnahmerate von D-Glucose-C-14 (U) zwischen 0 und 2500 Lux etwa gleich (Abb. 17). Sie ist zeitabhängig und wesentlich geringer als die vergleichbaren $^{14}\text{CO}_2$ -Werte im Licht.
3. Der gleiche, lineare Anstieg der D-Glucose-C-14-Inkorporation des Kurzzeitraumes ist auch über einen Langzeitraum bis zu 72 h zu beobachten (Tab. 12 a). Zwischen den Impulsraten bei 0 und 5000 Lux besteht kein signifikanter Unterschied, sie sind praktisch gleich für die hier gefütterte geringe Konzentration von 0.3 $\mu\text{C}/\text{ml}$.
4. Steigerung der Glucosekonzentration führt zu verstärkter, überproportionaler Inkorporation (Tab. 12 b). Höhere Konzentrationen führen auch zu großen Unterschieden zwischen Licht- und Dunkeleinbau.
5. Die Inkorporationsrate ist sehr stark vom Alter der Cysten

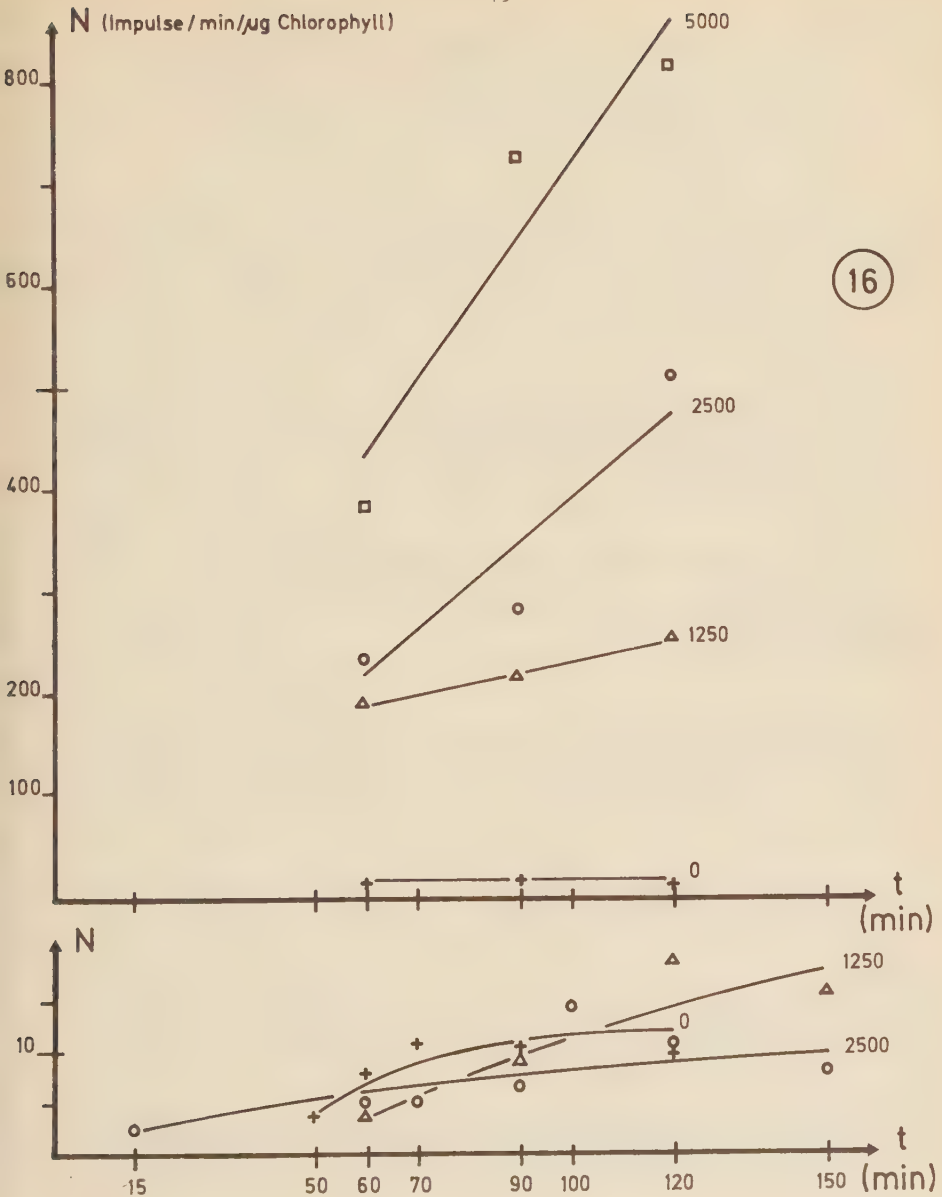


Abb. 16

Messung der Impulsrate N nach der Inkubation von A.clift.-Cysten in NaHCO_3 -haltigem Medium (C-14, $0.3 \mu\text{C}/\text{ml}$) in Abhängigkeit von der Zeit (Kurzzeitraum) und von der Beleuchtungsstärke.

Abb. 17

Messung der Impulsrate N nach der Inkubation von A.clift.-Cysten in NaHCO_3 -haltigem Medium (C-14, $0.3 \mu\text{C}/\text{ml}$) in Abhängigkeit von der Zeit (Kurzzeitraum) und von der Beleuchtungsstärke.

Tab. 12 Impulsraten (Impulse/min/ μg Chlorophyll) von A.clift- (a,b) und A.med- (c) Cysten in Medium mit D-Glucose-C-14(U)-Zusatz bei 0 und 5000 Lux in Abhängigkeit von der Zeit (a) und von der Glucosekonzentration des Mediums (b,c)

a) A.clift.; Langzeitinkubation, 0.3 $\mu\text{C}/\text{ml}$				
E (lx)		0		5000
t (h)				
2		11		12
24		42		45
72		54		58
b) A.clift.; junge (j) und alte (a) Cysten, 72 h				
Radio-aktivität ($\mu\text{C}/\text{ml}$)	E (lx)	0 j	0 a	5000 j 5000 a
0.3		54	42	58 45
1.0		134	47	271 85
3.0		1050	60	18400 210
c) A.med. ; 72 h				
Radio-aktivität ($\mu\text{C}/\text{ml}$)	E (lx)	0		5000
0.3		53		100
1.0		63		200
3.0		1080		1700

In 12 b, Vergleich zwischen alten (a) und jungen (j) Cysten

abhängig. Junge Cysten nehmen um ein vielfaches mehr auf, als alte Cysten (Tab. 12 b).

A.med

Die Einbauraten im Dunkeln sind vergleichbar mit denen der A.clift-Cysten (Tab. 12 c), bei 5000 Lux liegen sie jedoch deutlich unter denen der Clift-Cysten.

Aufgrund des geringen Gesamteinbaus, konnte für die Cysten die weitere Verarbeitung der C-14-Produkte nicht verfolgt werden.

2. Die Aufnahme und Metabolisierung von D-Glucose-C-14(U) durch Zellen von A.med

A) Die Aufnahme von D-Glucose-C-14(U) durch Zellen von A.med
Nachdem sich herausgestellt hat, daß Cysten aufgrund der zu geringen Aufnahmerate für weitere Versuche weniger geeignet sind, wurde die Inkorporation radioaktivmarkierter Stoffe mit ganzen Zellen untersucht.

A.med-Zellen, 10, 15 und 20 mm lang, wurde in drei verschiedenen Konzentrationen und unter unterschiedlichen Lichtbedingungen D-Glucose-C-14(U) in das Medium gegeben. Da diese Zellen nicht mehr als steril gelten können, ist der Einfluß von Bakterien nicht auszuschließen. Daher wurde in den ersten Versuchsserien Chloramphenicol zugesetzt, in Konzentrationen die für Bakterien letal, für Acetabularia jedoch unschädlich sind (APEL 1972).

Tab. 13 Impulsrate N (Impulse/min/ μg Chlorophyll $\times 10^3$) des Gesamthomogenats von A.med

Beleuchtungsstärke (lx)		0			5000			2500		
radioaktive ($\mu\text{C/ml}$) konzentration		0.3	1.0	3.3	0.3	1.0	3.3	0.3	1.0	3.3
zell- länge (mm)	Besonderheiten									
20	Chloramphenicol- zusatz 10^{-5} und 5×10^{-6} m	5	9	20	4	9	130	-	-	-
20		4	9	16	6	12	90	-	-	-
15		5	8	23	36	99	430	10	30	140
15	nach der Inkuba- tion für 24 h in kaltes Medium	-	-	25	-	-	-	-	33	120
10		-	50	110	-	-	-	-	102	320
10	DCMU-Zusatz 10^{-5} m	4	5	21	5	22	44	-	-	-

Versuchsdauer 24 h. Zusatz von D-Glucose-C-14(U) in Konzentrationen von 0.3, 1.0 und 3.3 $\mu\text{C/ml}$ Medium.

Wie Tab. 13 zeigt, beeinflußt Chloramphenicol die Glucoseaufnahme nicht. Daraus wird geschlossen, daß die Bemühungen um die Sterilität, die Bakterien soweit in Grenzen zu halten, daß sie die Versuche nicht beeinflussen, Erfolg hatten. Speziell die Glucoseexperimente hätten auf Insterilitäten

empfindlich reagieren müssen; jedoch auch die Kontrolle mit Testmedium verlief negativ. Daher wurde in den darauf folgenden Versuchen ohne Chloramphenicol gearbeitet.

Im Licht ist der Glucoseeinbau proportional zur gegebenen Konzentration, im Dunkeln ist dieser Effekt nicht ganz so deutlich.

Es besteht auch eine Abhängigkeit vom Zellalter, je kürzer die Zellen sind, desto höher ist die Inkorporationsrate.

Im Licht ist die Inkorporationsrate von der Beleuchtungsstärke abhängig. Das Verhältnis Licht- : Dunkeleinbau ist meist $> 5 : 1$.

Um zu überprüfen, inwieweit eine Rückführung inkorporierten Materials in das Medium stattfindet, wurden Zellen nach der Inkubation für 24 h in kaltes Medium gegeben. Wie die Befunde zeigen, wird von diesen Zellen kaum etwas von dem aufgenommenen C-14 wieder abgegeben. Diese Versuche lassen auch die weitere Verarbeitung der C-14-Produkte in den Zellen nach der Inkorporation ohne weitere C-14-Zufuhr verfolgen.

Da im Dunkeln der Einbau markierten Materials stark vermindert ist, wurde durch DCMU-Blockierung der Photosynthese versucht, einen analogen Zustand im Licht zu erreichen. Der durch Licht geförderte Einbau wird durch DCMU tatsächlich aufgehoben. Darüberhinaus bewirkt DCMU eine Hemmung des Dunkel-einbaus.

Im Vergleich zu den Cysten, ist der Glucoseeinbau in die Zellen um ein Vielfaches höher. Je nach Bezugzelltyp im Licht bis zu 250-fach, im Dunkeln bis zu 100-fach.

B) Die Metabolisierung der eingebauten Glucose

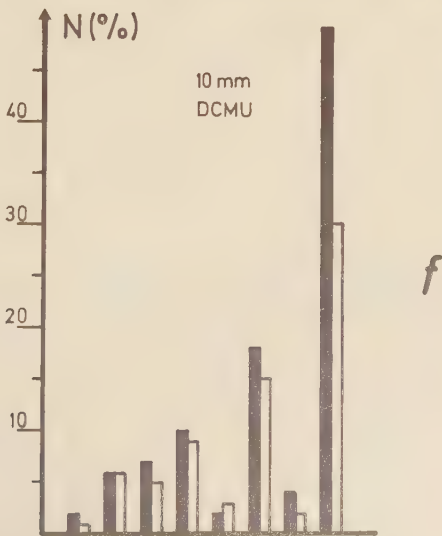
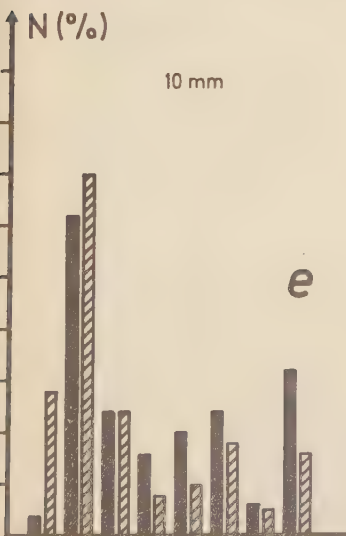
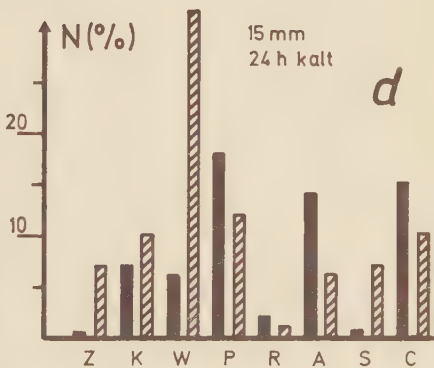
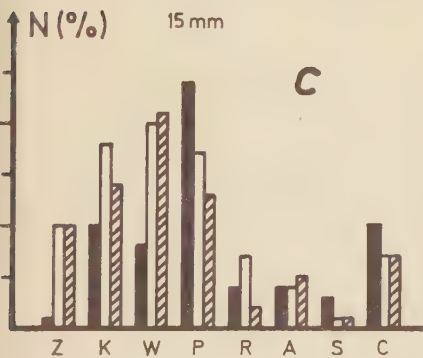
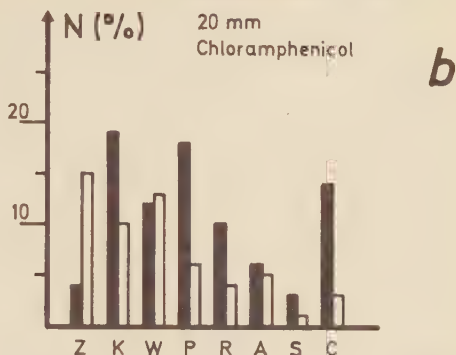
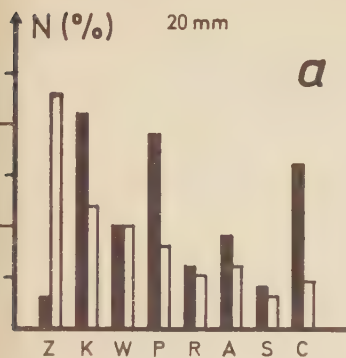
In Abb. 18 sind die prozentualen Anteile der einzelnen Fraktionen, nach 24 stündiger Inkorporation, gegliedert nach Kohlenhydraten, Proteinen, Säuren und Pigmenten für die Versuche aus Tab. 13 dargestellt. Trotz der starken Streuungen sind folgende Aussagen möglich.

Im Dunkeln (Abb. 16 a,b,c,e) ist die Hauptmasse an C-14 in den Proteinen (mit Aminosäuren), zu finden. Auffallend hoch ist der C-14-Anteil der Chlorophyllfraktion. Andererseits sind die löslichen Zucker am geringsten markiert, während die Stärkefraktion stets eine beachtliche Impulsrate aufweist.

Abb. 18

- 47 -

Impulsratenanteil der Einzelfractionen
Legende s. folgende Seite



Im Licht (Abb. 16 a,b,c,e) zeigen die Zellwandfraktion und die löslichen Zucker den höchsten Anteil an markiertem Kohlenstoff. Mit den löslichen Zuckern an erster Stelle in 20 mm Zellen und der Zellwandfraktion an erster Stelle in 15 mm Zellen. Der Anteil der Stärkefraktion konnte sich im Mittel etwa halten, mit Einbußen bei 20 mm Zellen und Anstiegen bei den kleineren Zellen.

Der C-14-Gehalt in den Pigmenten liegt wesentlich niedriger als in den Dunkelversuchen.

Bei 5000 Lux ist die Gesamteinbaurrate wesentlich höher als bei 2500 Lux (Tab. 13), die prozentuale Verteilung des C-14 auf die einzelnen Fraktionen ist jedoch in etwa gleich.

Im Licht und im Dunkeln ist der in den Aminosäuren zu findende C-14-Anteil in allen Fällen etwa gleich und hält sich konstant bei etwa 10 %. Das gleiche trifft etwa auch für die organischen Säuren zu.

Bei DCMU-Zusatz (Abb. 16 f) fällt der extrem hohe Anteil des in die Chlorophyllfraktion eingebauten C-14 im Dunkeln und im Licht auf. Ob es sich dabei um einen bevorzugten Einbau in die Pigmente oder Lipide handelt, wurde nicht untersucht. Im Gegensatz dazu ist die Einbaurrate in die löslichen Zucker auch im Licht absolut gering.

Die Einbaucharakteristik in Gegenwart von DCMU entspricht bei 0 und 5000 Lux den Normal-Dunkelverhältnissen ohne DCMU, jedoch in übersteigerter Form.

Nach der Überführung in kaltes Medium (Abb. 16 d) bleibt die Gesamtimpulsrate der Homogenate erhalten (Tab. 13). Somit können die Anteile der einzelnen Fraktionen mit denen der anderen Versuche gut verglichen werden. Eindeutig ist nur der gestiegene Impulsratenanteil der Zellwandfraktion im Licht

Abb. 18, Legende

Prozentualer Anteil (Durchschnittswerte) der Einzelfraktionen an der Impulsrate N (100 %) des Gesamthomogenats aus Tab. 13 .

Beleuchtungsstärke E : 0, 5000, 2500 Lux
Fraktionen : Z - lösliche Zucker
K - unlösliche Zucker (Stärke)
W - Zellwandzucker
P - Proteine
R - Hestproteine
A - Aminosäuren
S - Organische Säuren
C - Pigmente (Chlorophylle)

und der gestiegene Anteil in den Aminosäuren im Dunkeln, auf Kosten der Anteile in den löslichen Zuckern, Zellwandzuckern und Pigmenten. Leicht gefallen ist auch der C-14-Anteil der Stärkefraktion im Dunkeln und im Licht.

Bei diesen Untersuchungen liefern die Versuche in denen 10 μC (3.3 $\mu\text{C}/\text{ml}$) gefüttert wurden die eindeutigsten Ergebnisse, da besonders bei geringen Einbauraten die Verluste bzw. Fehler nicht so hoch sind. Wie Tab. 13 besonders am Beispiel der 15 mm Zellen zeigt, ist die Gesamteinbaurate meist direkt proportional zur gegebenen Konzentration. Qualitativ unterscheidet sich die weitere Verarbeitung der inkorporierten Glucose nicht, so daß die Versuche mit 10 μC repräsentativ sind. In den folgenden Experimenten wird ausschließlich mit dieser Konzentration gearbeitet.

Die Aufnahme und Verarbeitung verschiedener, markierter Stoffe durch A.med

A) Die Gesamt-C-14-Inkorporation nach Fütterung von Glucose, Saccharose, Glycin und Phenylalanin

Die bisherigen Versuche haben u.a. gezeigt, daß Cysten und Zellen Glucose im Licht und im Dunkeln aufnehmen und zumindest in den Zellen auch aktiv verarbeiten können. Ungeklärt ist, wie die Stoffaufnahme erfolgt. Mögliche Mechanismen wären die Diffusion und Osmose, der Transport mit Hilfe von Carriern, Pumpen und spezifisch wirkenden Enzymen. Während der Transport durch Diffusion und Osmose als passiv gilt, können die übrigen Mechanismen als aktiv gegenübergestellt werden, falls sie Energie verbrauchen und gegen einen Konzentrationsgradienten arbeiten. Für die Aufnahme von Ionen werden im allgemeinen aktive Mechanismen angenommen, während neutrale, organische Moleküle in größerem Umfang auch passiv aufgenommen werden können. Da der aktive Transport energieabhängig ist, kann durch CN^- , das durch Unterdrückung der Zellatmung die ATP-Bildung stark vermindert, die Ionenaufnahme blockiert werden. In den geschilderten Experimenten, hat DCMU die Aufnahme der neutralen Glucose herabgesetzt. Da von DCMU angenommen wird, daß es auf das Photosystem II wirkt, deutet dieser Befund auf einen aktiven Transport der Glucose mit energetischer Kopplung an das Photosystem II hin. Auch die Ergebnisse von Versuchen mit Chlorella (KANDLER 1954, TANNER und KANDLER 1967, TANNER et al. 1970) scheinen einen aktiven Hexoseaufnahmemechanismus zu beweisen. Da Chlorella u.a. auf DCMU nur schwach reagiert, wird auf einen ATP oder $\sim P$ -Antrieb der cyclischen Phosphorylierung geschlossen.

Um hier ggf. nähere Aufschlüsse zu erhalten, sollen verschiedenartige Moleküle geboten werden. Bei der Untersuchung ihrer Weiterverarbeitung ist bei spezifischen Unterschieden evtl. auch eine Entscheidung darüber möglich, wie durch entsprechende Zusätze der Dunkelstoffwechsel bis zum Wachstum angeregt werden kann.

Als neutrale Moleküle bieten sich ein kleines (Glucose) und ein großes (Saccharose) Zuckermolekül an. Für die Glucose sind schon Vergleichsdaten vorhanden, sie ist zudem im pflanzlichen Stoffwechsel sehr wichtig. Saccharose ist in Acetabularia noch häufiger zu finden, sie wurde schon in den ersten Versuchen benutzt (Kap. 1). An geladenen Molekülen

werden zwei Aminosäuren gewählt, die stoffwechselphysiologisch bedeutsam sind. Glycin als kleines, Phenylalanin als größeres Molekül.

Für die Versuche bringt die Verschiedenartigkeit der Moleküle ein neues Problem. Durch die unterschiedlichen, spezifischen Aktivitäten ist zu entscheiden, ob die Stoffe in gleicher Konzentration (hier 1.2×10^{-5} mol) oder mit gleicher Aktivität gegeben werden.

Da in geringer Konzentration, wenn auch bei Molekülen höherer spezifischer Aktivität, Strahlungsschäden oder Einflüsse auszuschließen sind, unterschiedliche Impulsraten auf gleiche Aktivitäten rückrechenbar sind, wurde die Konzentration konstant gehalten. Somit bleiben die osmotischen Verhältnisse und Stoffwechselbelastungen grundsätzlich gleich.

Für die entscheidenden Größen Radioaktivität, Molekülmasse und Konzentration der vier gewählten Stoffe gilt Tab. 14. Als Versuchsmaterial dienten 10 mm lange Zellen von A. med.

Tab. 14 Vergleich der Massen und Aktivitäten verschiedener Zusatzstoffe

	Glycin C14(U)	L-3 Phenylalanin C14(U)	Saccharose C14(U)	D-Glucose C14(U)
Molekülmasse u	79	181	360	189
u : 189	0.42	0.96	1.9	1
Konzentration c (M)	1.2×10^{-5}	1.2×10^{-5}	1.2×10^{-5}	1.2×10^{-5}
Radioaktivität ($\mu\text{C/ml Medium}$)	0.5	1.9	2.4	1.1
Aktivität: $\frac{1}{F_A}$ 1.1	0.5	1.7	2.2	1

Zum Vergleich der Gesamteinbauraten wurden die Werte auf die Bezugskonzentration von $1 \mu\text{C/ml}$ umgerechnet. Z.B. ergeben für Glycin und Phenylalanin die Meßwerte bei 0 Lux 30.000 und 132.000 Impulse/min/ μg Chlorophyll. Da die gleiche Konzentration gefüttert wurde, gibt der Wert für Phenylalanin einen höheren Moleküleinbau an. Das ist jedoch kaum der Fall, wie die Berücksichtigung der spezifischen Aktivitäten durch die Faktoren F_A 0.5 und 1.9 zeigt. Neben der theoretischen Korrektur, werden durch den Faktor F_K die tatsächlichen Aktivitäten aufgrund von Kontrollmessungen bei Versuchsbeginn berücksichtigt.

Korrekturfaktor F_K :

F_K Gly	1.2	F_K Saccharose	1.4
F_K Phe	1.2	F_K Glucose	0.8

Die in Tab. 15 dargestellten, korrigierten Werte führen zu folgenden Ergebnissen.

Tab. 15 Impulsrate N (Impulse/min/ μ g Chlorophyll) des Gesamthomogenats 10 mm langer Zellen von A.med nach Zugabe verschiedener, radioaktivmarkierter Substanzen. Versuchsdauer 24 h

	0 lx			2500 lx		
	Meßwert	: F_A	x F_K	Meßwert	: F_A	x F_K
Glycin	30.000	60.000	72.000	82.600	165.000	198.200
Phenylalanin	132.000	69.500	82.800	304.000	160.000	192.000
Saccharose	122.000	50.800	71.100	341.000	142.100	198.900
Glucose	55.000	50.000	40.000	112.000	101.800	81.500

F_A - Faktor zur Berücksichtigung unterschiedlicher, spezifischer Aktivitäten. Umrechnung auf eine Bezugsrate zugeführter Substanz von je 1 μ C/ml Medium (s.Tab. 14).

F_K - Korrekturfaktor zur Berücksichtigung der tatsächlich bei Versuchsbeginn im Medium gefundenen Aktivitäten.

Das Gesamtverhältnis Lichteinbau : Dunkeleinbau beträgt für
 Glycin 2.75 : 1 , Saccharose 2.80 : 1 ,
 Phenylalanin 2.32 : 1 und Glucose 2.04 : 1 .

Die Aminosäuren werden trotz unterschiedlicher Größe bzw. Masse im Licht und im Dunkeln jeweils gleich stark eingebaut. Der Anelektrolyt Saccharose, dessen Masse 4.5 mal größer als die des Glycins und 2 mal größer als die des Phenylalanins ist, wird in gleichem Maße wie diese beiden Aminosäuren aufgenommen.

Die Glucose (Monosaccharid) wird im Dunkeln und Licht nur halb so gut wie die Saccharose (Disaccharid) inkorporiert.

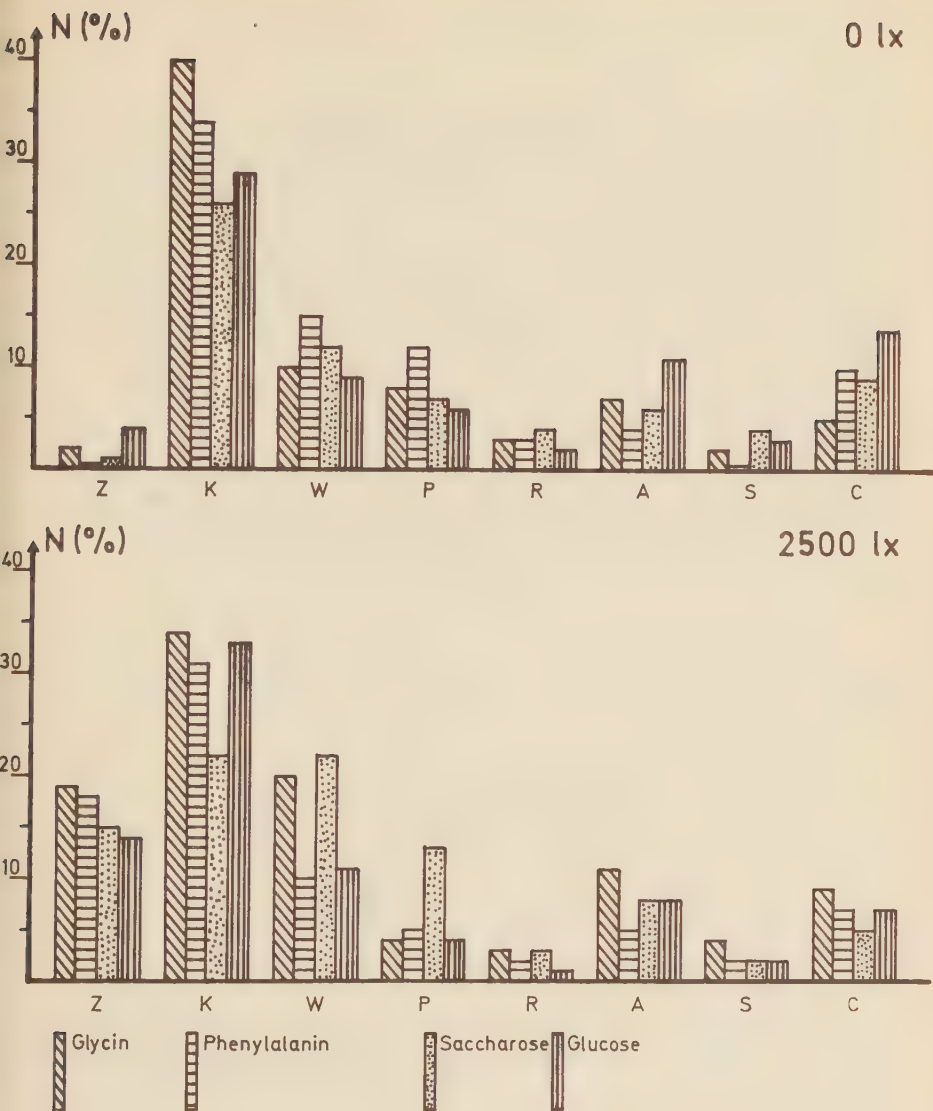


Abb. 19

Prozentualer Anteil (Durchschnittswerte) der Einzelfractionen an der Impulsrate N (100 %) des Gesamthomogenats nach Zugabe von vier verschiedenen Stoffen (s.Tab. 15).
 Beleuchtungsstärke 0 und 2500 Lux. Zusatzstoffe:

Glycin-C-14 (U), L-3 Phenylalanin-C-14 (U),
 Saccharose-C-14 (U), D-Glucose-C-14 (U)

Fractionen s. Legende zu Abb. 18

B) Die Metabolisierung von Glucose, Saccharose,
Glycin und Phenylalanin

Quantitativ unterscheiden sich die Impulsratenanteile gleicher Fraktionen kaum (Abb. 19). Signifikante Unterschiede ergeben sich nur für Glucose, bei deren Fütterung der Anteil löslicher Zucker im Dunkeln höher als bei Zusatz der anderen Stoffe ist.

Nach Saccharosefütterung ist der C-14-Anteil in der Protein- und Zellwandfraktion im Licht höher als in den Fraktionen der Vergleichssubstanzen, wobei für die Zellwandfraktion gleiches für den Glycinzusatz gilt.

Bei Phenylalaninzusatz ist die Markierungsrate des Aminosäurepools im Dunkeln und Licht geringer als bei allen anderen Stoffen.

Betrachtet man die Werte der Fraktionen für alle vier im Dunkeln und Licht gefütterten Stoffe jeweils als Ganzes, so ergibt sich ein ähnliches Bild wie in Abb. 18 e .

Der Einfluß einer Dunkelperiode auf die Inkorporation und Metabolisierung von D-Glucose in A.med

Bedingt durch Kernaktivitäten bei aufgehobener Photosynthese zeigen Zellen (besonders dann entkernte) von A.med nach Dunkelperioden besondere Stoffwechselaktivitäten (HÄMMERLING 1959). Das legt die Vermutung nahe, daß auch die Stoffaufnahme und Verarbeitung durch Dunkelperioden beeinflußt werden könnte. Diese Vermutung erschien auch dadurch gerechtfertigt, als Streuungen in den bisherigen Versuchen davon abhängig zu sein schienen, ob die Versuche unmittelbar nach der Dunkelperiode oder nach mehrstündiger Belichtung durchgeführt wurden.

Entsprechend den bisherigen Versuchen, wurden 10 mm lange Zellen von A.med wieder mit D-Glucose-C-14-(U) gefüttert, nachdem sie 0, 3, 7 und 14 Tage im Dunkeln ("Vordunkel") gehalten wurden. Zellen deren Inkorporation im Dunkeln untersucht werden sollte, erfuhren nach dem Vordunkel eine kurze Lichtunterbrechung beim Mediumwechsel und Glucosezusatz.

A) Der Gesamteinbau

Unterschiedliche Vordunkelperioden beeinflussen die Gesamtinkorporation der Zellen im Dunkeln und im Licht nicht (Tab.16)

Tab. 16 Impulsrate N (Impulse/min/ μ g Chlorophyll) des Gesamthomogenats von A.med-Zellen

Vorbehandlung	0 lx	2500 lx
ohne Vordunkel	35.700	128.000
mit 3 d Vordunkel	35.000	140.000
7 d	37.500	126.000
14 d	39.000	123.200

Versuchsdauer 24 h. Zusatz von D-Glucose-C-14(U), Konzentration 1 μ C/ml Medium. Zellen 10 mm lang, ohne und mit Vordunkelperiode (3, 7, 14 d) nach Anzucht im 12/12 h Licht/Dunkel-Wechsel

Allen Versuchen gemeinsam ist auch die um das 3.5-fache höhere Einbaurate im Licht gegenüber dem Dunkeln.

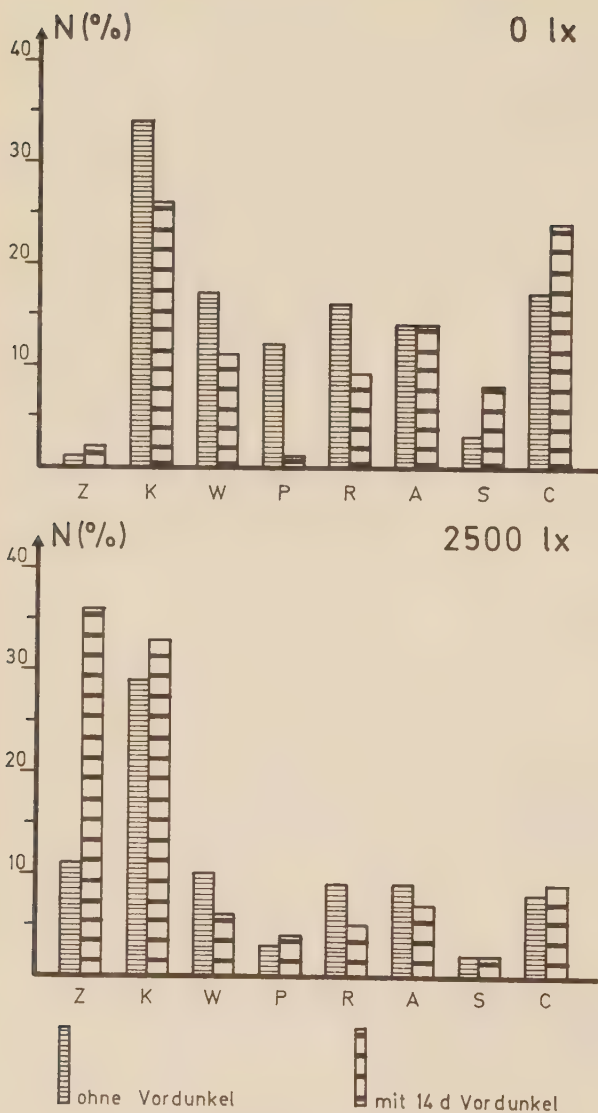


Abb. 20

Prozentualer Anteil der Einzelfractionen an der Impulsrate N (100 %) des Gesamthomogenats aus Tab. 16.
 Zusatzstoff: D-Glucose-C-14 (U), 1 μ C/ml Medium. Zellen ohne und mit 14-tägiger Vordunkelperiode.
 Fraktionen s. Legende zu Abb. 18.

B) Metabolisierung

Aufgrund des eindeutigeren Effekts werden nur die Versuche mit 14 d Vordunkel herangezogen. Qualitativ ergeben sich folgende Verschiebungen gegenüber Versuchen ohne Vordunkel (Abb. 20 und 18 e).

Dunkelheit 1) leicht höherer C-14-Anteil der löslichen mit 14 d Zucker, bei gleichzeitig stärkerer Minderung Vordunkel des Stärke- und Zellwandanteil.

- 2) Sehr starker Abfall in den Proteinen, während die Aminosäuren ihren typischen, konstanten Wert beibehalten.
- 3) Starke Anstiege der Impulsraten organischer Säuren und der Pigmente.

2500 Lux 1) In den löslichen Zuckern akkumulieren die mit 14 d bisher größten gemessenen C-14-Mengen.

- Vordunkel 2) Der Impulsratenanteil der Stärkefraktion liegt auf etwa normalem Niveau ohne Vordunkel, jedoch höher als im Dunkeln. Bei der Zellwandfraktion ist es umgekehrt, ihr Anteil ist deutlich gefallen.
- 3) Der Anteil der Proteine ist wieder gestiegen, er bewegt sich jetzt auf dem normalen Niveau ohne Vordunkel.
 - 4) Die Impulsraten der Aminosäuren, organischen Säuren und Pigmente haben ihre schon bekannten mittleren bzw. niedrigen Werte.

Während bei den bisherigen Versuchen der Gesamtstärkegehalt der Zellen relativ konstant blieb, waren bei den Zellen mit einer Vordunkelperiode Veränderungen zu beobachten (Abb. 21) .

Der Stärkegehalt fiel während der Vordunkelperiode sehr stark und stieg während der Lichtperiode von 24 h wieder auf etwa 2/3 des ursprünglichen Wertes an. Hier könnte eine Erklärung für den geringen Anteil der Zellwandfraktion an der Gesamtimpulsrate liegen. Ein sehr großer Teil der inkorporierten Glucose-C-14-Teile ist in der Stärkefraktion zu finden, deren Vorstufen den überdurchschnittlichen Anteil der löslichen Zucker ausmachen.

Im Dunkeln verändert sich auch bei Glucosefütterung der stark verminderte Gesamtstärkegehalt nicht.

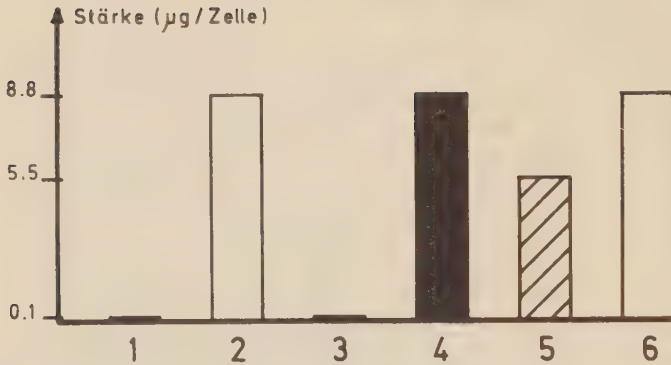


Abb. 21

Der Gesamtstärkegehalt von A.med-Zellen mit und ohne Vordunkelperiode

- 1 - Zellen mit Vordunkelperiode (14 d)
- 2 - Zellen ohne Vordunkelperiode
- 3 - Dunkelzellen mit Vordunkelperiode
- 4 - Dunkelzellen ohne Vordunkelperiode
- 5 - Lichtzellen (24 h, 2500 Lux) mit Vordunkelperiode
- 6 - Lichtzellen ohne Vordunkelperiode

Der Anteil einzelner, radioaktivmarkierter, löslicher Zucker und Aminosäuren an der Fraktion löslicher Zucker bzw. der Aminosäurefraktion nach Anbieten verschiedener, markierter Zucker bzw. Aminosäuren

Obwohl diese Analyse zu den einzelnen Versuchen gehört, wird sie als Übersicht über alle Versuche dargestellt (Tab. 17).

Im Anschluß an die Ergebnisse der Versuche mit einer Vordunkelperiode, ist zunächst die Impulsratenverteilung in den löslichen Zuckern interessant.

Im Vergleich zu allen anderen 10 mm Zellen beträgt der markierte Glucoseanteil (Glc) der löslichen Zucker nach einer Vordunkelperiode bei 2500 Lux das 5-fache. Ein noch höherer Anteil ist daneben nur in den DCMU-Dunkelzellen zu finden, und ein vergleichsweise hoher in den DCMU-Hellzellen. Die übrigen Zuckerwerte entsprechen denen der anderen Zellen. Fast allen Versuchen gemeinsam ist der hohe C-14-Einbau in die Fructose mit Extremwerten in den Zellen, die nach der Inkubation in kaltes Medium überführt wurden. Die niedrigsten Fructosewerte liefern die Zellen aus den Versuchen mit zusätzlicher Anwendung von DCMU.

Hinweise auf den totalen Stoffumsatz geben die Saccharose- und Glucosewerte, die in keiner Beziehung zu den jeweils gefütterten Zuckern oder Aminosäuren stehen. Ihr Umsatz scheint vom Alter der Zellen (Zell-Länge) und bei Lichtzellen von der Beleuchtungsstärke abhängig zu sein.

Chloramphenicol hat keinen Einfluß auf den C-14-Umsatz in den löslichen Zuckern.

Mit am auffälligsten sind die Werte für Inosit, das als myo-Inosit identifiziert in gleichbleibend hohen Anteilen ausschließlich in Dunkelzellen gefunden wurde. Ausnahmen sind die DCMU-Zellen und die Zellen die nach 24 h in kaltes Medium kamen. Die Zellen der Glycin- und Phenylalaninfütterung hier mit anzuführen erscheint fragwürdig, da Werte für die meisten Zucker unter der Nachweisgrenze lagen.

Der z.T. sehr geringe Anteil identifizierter, löslicher Zucker, ist durch große Mengen niedermolekularer Fructosane zu erklären ($Glc \sim F - F_n$; $F = \text{Fructose}$), die nicht eindeutig bestimmt werden konnten. Auf den Chromatogrammen zeigten sich stets einige Banden, die auf das regelmäßige Vorkommen der Fructosane mit $n = 1 - 3$ schließen lassen (EDELMAN, JEFFORD 1968)

E (lx)	0										5000					2500				
C-14-Stoff	Glc	Glu	Glc	Glc	Glc	Sac	Gly	Phe			Glc	Glu	Glc	Glc	Glu	Glc	Glc	Sac	Gly	Phe
s (mm)	20	20	20	15	15	10	10	10	10	10	20	20	20	15	10	10	15	15	10	10
Besonder- Ami- hei- no- ten- sauren	Ch am			n. 24 k		DC 14 MU D					Ch am			DC MU		n. 24 k		14 D		
Glu	30	32	30	10	10	5	5	5	5	40	31	26	35	34	24	25	28	26	25	27
Gln	x	x	x	18	x	19	x	17	x	5	6	5	4	6	3	3	3	4	6	6
Asp	4	4	6	5	5	5	4		6	x	4	4	6	6	4	4	6	4	3	8
Asn	4	5	6	5	6	6	4	4	6	x	14	12	14	15	x	12	13	8	16	6
Ala	5	x	x	10	x	20	20	15	15	10	10	8	5	x	5	5	5	5	5	5
Gly	x	x	x	x	x	x	x	x	x	10	x	x	x	x	x	x	x	x	x	10
Phe						10	x	8		6							x	x	x	x
Arg						x	13	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Ser	x	x	x	x		8	x	x	6	x	6	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Val		x	x	x		x				x	x	x	x	x	x	x	x	x		x
His		x	x			x	x				x				x			x	x	x
Leu			x	x		x					x	x			x		x	x	x	x
Ile			x	x		x					x	x			x		x	x	x	x
Lys				x									x		x		x	x	x	x
Thr		x				x					x							x		x

lösliche Zucker															
Inosit	24			24	26	23							1	x	x
Saccharose	25			30	15	19	13		6		11	6	12	8	10
Glucose	30			2	42				4		9	4	8	8	x
Fructose	20		90	40	11	18			45		27	45	65	72	75

Tab. 17

Prozentualer Anteil einzelner Aminosäuren und löslicher Zucker an der Gesamteinbaubate der Aminosäuren und löslichen Zucker.

Glu - Glutaminsäure Glc - Glucose
Gly - Glycin Sac - Saccharose
Phe - Phenylalanin

Ch
am - Chloramphenicol DC
MU - DCMU } als
Zusätze

n. nach 24 h 14 mit 14 d
24 Inkubation D. Vordunkel
k in kaltes Medium

x - radioaktiv markiert nachgewiesen < 4%
□ - hervorragende Einzelwerte

Entsprechend einer, als relativ gleichbleibend anzunehmen- den Gesamtinkorporation im Aminosäurepool, ist die Verteilung der Radioaktivität innerhalb der einzelnen Aminosäuren ver- hältnismäßig gleichbleibend. Unterschiede ergeben sich durch die Art der zugesetzten Verbindungen und durch die Versuchsbedingungen. Die Lichtintensität, Dunkelheit und Chloramphenicol beeinflussen dagegen die prozentuale Zu- sammensetzung der Aminosäurefraktion nicht, d.h. der Aminosäurestoffwechsel wird ebenfalls nicht beeinflusst.

Markierte Glutaminsäure ist in allen Licht- und in 20 mm Dunkelzellen in konstantem, hohen Prozentsatz von etwa 30 % zu finden. 15 und 10 mm Zellen zeigen im Dunkeln ein Ab- fallen auf 10 bzw. 5 %. Diese Markierungsraten ändern sich bei Glutaminsäurezusatz nicht.

Asparaginsäure ist ungefähr gleichmäßig in den Zellen aller Versuche markiert. Nach 14-tägigem Vordunkel ist der Anteil bei 2500 Lux jedoch 8 % gegenüber 3 % der Kontrollpflanzen. Besonders auffällig ist der Anteil von 20 % bei Zusatz von Phenylalanin.

Der Asparaginimpulsratenanteil verhält sich umgekehrt zu dem der Asparaginsäure. Im Phenylalaninversuch ist nichts nach- weisbar, nach 14 d Vordunkel ist der Wert auf 6 % gesunken, während der Kontrollwert mit 16 % relativ hoch liegt.

Nach Überführung in kaltes Medium bei 2500 Lux sinkt der markierte Anteil, um bei DCMU-Zusatz/5000 Lux auf ein Minimum herabzugehen.

Die Dunkelwerte sind für Asparagin verhältnismäßig homogen, liegen aber um etwa 50 % unter denen der Durchschnittshell- werte.

Glycin ist regelmäßig in gleichbleibend, geringem Maße mar- kiert, mit Ausnahme der Versuche in denen es selbst ge- füttert wurde. Sein Anteil steigt dann im Dunkeln und im Licht auf das 3-fache.

Phenylalanin wurde im Dunkeln nur in 10 mm Zellen unregel- mäßig markiert gefunden. Interessant ist jedoch der Versuch, in dem es selbst zugesetzt wurde. Da es 60 % der Aminosäure- aktivität ausmacht, wird geschlossen, daß es für den wei- teren Umsatz in den Aminosäuren nicht förderlich ist. Es wird zwar im Dunkeln leicht aufgenommen, aber nicht so leicht weiterverarbeitet, während es im Licht kaum zu finden ist. Das erklärt auch die niedrige Impulsrate des Gesamtamino-

säurepools (s. Abb. 19). Im Licht wurde Phenylalanin wie im Dunkeln nur in den jungen Zellen nachgewiesen. In 10 mm Zellen immer in gleichem Anteil von etwa 2 - 3 %.

Diskussion

1. Dunkelfütterungen steriler Zellen

Wie die Befunde an *A.clift* (s. 2. Kapitel) und von TERBORGH (1965) an *A.cren* zeigen, ist das Längenwachstum bei kleinen Zellen besonders ausgeprägt. Für den Versuch, das Wachstum im Dunkeln anzuregen wurde daher im wesentlichen mit Zellen von 0.5 - 2 mm Ausgangslänge gearbeitet. Diese Zellen bieten zudem den Vorteil, daß sie mikroskopisch im Ganzen vermessen werden können, so daß auch geringste Längenänderungen feststellbar sind.

Um endgültige Aussagen über einen möglichen Substanzzuwachs zu erhalten, wurden auch Trockengewichtsbestimmungen versucht. Diese sind jedoch daran gescheitert, daß bei Versuchsbeginn eine vergleichbare Kontrollgruppe bereitstehen muß, die allgemeingültige Nullwerte liefert. Die Zellen sind jedoch so klein, daß die für eine sinnvolle Trockengewichtsbestimmung benötigten Mengen als Sterilkultur nicht kultivierbar waren. Die erhaltenen Werte waren nicht miteinander vergleichbar.

Aufgrund der Längenmessungen der sterilen Zellen kann *A.clift* in die Gruppe der Algen eingereiht werden, bei denen ein Dunkelwachstum weder durch Glucose noch durch Acetat induzierbar ist. D.h. *A.clift* ist eine photosynthetisch autotrophe Alge.

Von den bisher untersuchten Algenarten (etwa 300, Literatur s. DROOOP in STEWART 1974) gehören zu dieser Gruppe etwa 45 %. Bei 13 % kann Dunkelwachstum durch Glucose und Acetat induziert werden. 14 % reagieren nur auf Acetat und 23 % nur auf Glucose. Bei 4 % dieser Algen sind Aminosäuren wirksam. Obwohl diese Zahlenverhältnisse durch den Zufall der Objektwahl bestimmt sind, zeigen sie, daß die Gruppe der Algenarten die im Dunkeln nicht zum Wachstum angeregt werden können, bei weitem die größte ist. Dies ist um so wahrscheinlicher, als die bisher untersuchten Arten eine repräsentative Auswahl darstellen, d.h. Vertreter fast aller Algenklassen und der verschiedensten Biotope umfassen. Süßwasser-algen sind in dieser Gruppe genauso zu finden wie marine Formen. Damit entfallen sämtliche Möglichkeiten, den Wachstumsstop von *A.clift* im Dunkeln trotz Glucose- und Acetatzusatzes, in einen systematischen Zusammenhang zu stellen.

So wie sich die verschiedensten Algenarten in ihrer Reaktion auf Dunkelheit und Stoffzusatz ähnlich verhalten, können eng verwandte Arten grundsätzlich verschieden reagieren. Z.B. zeigen einige Arten der besonders gut untersuchten Gattung *Chlorella* Dunkelwachstum auf Glucose und Acetat, während andere Arten dieser Gattung im Dunkeln nur mit Glucose oder garnicht wachsen (SHIHIKA & KRAUSS 1965). Selbst Varietäten einer Art reagieren unterschiedlich, wie z.B. bei *Euglena gracilis* die Dunkelwachstum mit Glucose bzw. Acetat zeigen oder aber nur mit Acetat aber nicht mit Glucose (CHAMER & MYERS 1952). Diese Befunde legen nahe, daß die an *A.clift* gewonnenen Ergebnisse nicht auf andere *Acetabularia*-Arten übertragen werden können.

Die Ursache dafür, daß bestimmte Algen die gebotenen Kohlenstoffquellen nicht für ein Dunkelwachstum nutzen können ist unklar. Mögliche Erklärungen wären die Undurchlässigkeit der Membranen für die Zusatzstoffe, die Unfähigkeit der Zellen aufgenommene Stoffe zu verarbeiten und die Toxizität der zugesetzten Substrate. Im ersten und zweiten Fall könnte das Fehlen von Enzymen, besonders von Permcasen und Kinasen eine entscheidende holle, speziell für die Aufnahme von Kohlenhydraten, spielen, während die Aufnahme organischer Säuren durch ihre eigenen Protonen beeinflußt werden kann. Die Toxizität ist nicht die hegel und wird als physiologischer Grenzfall nicht diskutiert. Die Wirkung von Protonen läßt sich z.B. aufgrund experimenteller Befunde an *Chlorella*, auf ihre Beeinflussung spezifischer carrier zurückführen (KOMOR & TANNER 1974). Damit kann die Wirkungslosigkeit von Säuren ggf. auch durch Transportschwierigkeiten erklärt werden.

Das Vorkommen von Glucokinase in Algen die nur mit Acetat, nicht aber mit Glucose im Dunkeln wachsen, gibt einen Hinweis auf die möglicherweise grundsätzlich größere Bedeutung der Durchlässigkeits- bzw. Transportprobleme (CHAPMAN et al. 1965). Um bei den untersuchten *A.clift*-Zellen auszuschließen, daß der Mangel an energiereichen Substraten die Weiterverarbeitung aufgenommenen, organischen Kohlenstoffs verhindert, wurden auch phosphorylierte Substrate und Substrate mit ATP-Zusätzen geboten. Daher könnte auch hier aufgrund der negativen

Befunde geschlossen werden, daß im Dunkeln die Aufnahme der organischen Kohlenstoffverbindungen zu gering ist, um sie für ein Dunkelwachstum nutzen zu können.

2. Flächen- und Volumenrelationen in Bezug auf die Stoffaufnahme

Bei allen Versuchen mit *Acetabularia* über einen längeren Zeitraum, sind gravierende morphologische Veränderungen zu beachten. Der Organismus ist bis zur Aufgabe seiner Individualität (Hutzerfall und Cystenfreisetzung) in kontinuierlicher Veränderung, so daß jedes Experiment das über einen längeren Zeitraum läuft von verschiedenen Unbekannten beeinflusst wird. Für das Kurzzeitexperiment gilt ähnliches. Je nach Ausgangslänge (Alter) befindet sich die Zelle in einer typischen Entwicklungsphase, so daß Zellen unterschiedlicher Länge nicht miteinander vergleichbar sind. Sichtbarster Ausdruck permanenten Wandels ist der Wirtelaufbau und Abbau und die Hutbildung. Auch der Stiel verändert sich nicht nur in der Länge sondern auch in der dritten Dimension (s.a. CLAUSS 1975).

Am Anfang ihrer Entwicklung bis zu etwa 5 mm Stiellänge zeigen die Zellen vornehmlich ein Längenwachstum, wobei $\Delta s \sim 5 \Delta V$ ist (Abb. 15). Dem schließt sich bis etwa 25 mm eine Phase starker Volumenzunahme an, mit $3 \Delta s \sim \Delta V$, d.h. die Ausgangsverhältnisse werden ins andere Extrem verkehrt. Dieser Prozeß ist von der Beleuchtungsstärke grundsätzlich unabhängig (Tab. 8 und 11). Das bedeutet für die kleinen Zellen eine relativ stärkere Oberflächenvergrößerung im Verhältnis zu den anschließenden Entwicklungsphasen bis zur Hutbildung, und damit auch verhältnismäßig größere Oberflächen für den Stoff- und Gasaustausch. Die Möglichkeiten für die Anregung des Wachstums und der Entwicklung werden damit verbessert, die Realisation, hier als extreme Volumen- bzw. Substanzzunahme schließt sich an. Unter diesem Aspekt ist auch der Einfluß der Beleuchtungsstärke auf die Zell-Länge interpretierbar. Bis zu etwa 900 Lux wachsen extrem lange und verhältnismäßig dünne Zellen heran. Bei *A. clift* beträgt z.B. die Zell-Länge bei 50 % Hutbildung (500 lx) 159 mm, unter Normallichtbedingungen (etwa 2000 lx) dagegen 95 mm. Da sich bei beiden Zelltypen der Durchmesser nur noch unwesentlich ändert, ist die Relation $\Delta s \sim \Delta V$, d.h. die relative Volumenzunahme geht wieder zurück. Damit haben die bei geringerer Beleuchtungsstärke herangewachsenen

Zellen eine vergleichsweise größere Oberfläche. Noch extremer sind die Verhältnisse bei 50 Lux. Der Durchmesser der unter Normalbedingungen herangezogenen Zellen verringert sich bei 50 Lux auf etwa die Hälfte, so daß sich der relative Volumenzuwachs um etwa zwei Drittel, der relative Flächenzuwachs nur um etwa die Hälfte pro Längeneinheit vermindert. Bei diesen langen, dünnen Zellen ist die Stabilität zwar stark beeinträchtigt, der Stoffaustausch mit dem umgebenden Medium ist jedoch begünstigt.

In diesem Zusammenhang können auch die Impulsraten der Glucoseaufnahme herangezogen werden (Tab. 13). Vergleichbar sind drei verschieden lange Zellen bei 0 Lux. In Anlehnung an Tab. 10 ergibt sich:

	10 mm		15 mm		20 mm
Oberflächenverhältnisse	1.0	:	2.0	:	3.0
Volumenverhältnisse	1.0	:	2.5	:	4.5
Oberfläche : Volumen	19 : 1		15 : 1		12 : 1
Impulsratenverhältnisse	7	:	5	:	1

Eine analoge Auswertung der Messungen von TERBORGH & THIMANN (1964) an *A. cren* führt zu prinzipiell ähnlichen Resultaten.

	10 mm				20 mm
Oberflächenverhältnis	1.0	:	-	:	3.6
Volumenverhältnis	1.0	:	-	:	7.3
Oberfläche : Volumen	8 : 1		-		4 : 1

Der relative Oberflächenanteil korreliert mit der Impulsrate besser als die Volumenraten. Das stimmt überein mit Theorien zum Stofftransport bei denen die Aufnahme eine Funktion der zur Verfügung stehenden Oberflächen ist. Die Vergrößerung der Zellwandoberfläche führt zunächst zu einer Vergrößerung des apparent free space, der speziell bei Kurzzeitversuchen die Stoffaufnahme fördert. Weiterhin ist mit der Vergrößerung der Zellwand eine Vergrößerung des Plasmalemmas gekoppelt. Unabhängig von der jeweils benutzten Theorie des Stofftransports, schafft ein vergrößertes Plasmalemma mehr Raum für Enzyme und Trägersysteme. Dies zeigen besonders die Protuberanzen von Drüsenzellen höherer Pflanzen, die sich durch einen sehr intensiven Stofftransport innerhalb des Gewebeverbandes auszeichnen (GUNNING & PATE 1969).

Strenge Proportionalität ist nur für den rein passiven Mechanismus der Osmose zu erwarten. Bei aktivem Transport

und enzymatischer Steuerung ist die Bedeutung des relativen Anteils der aufnehmenden Flächen geringer, besonders wenn bei enzymatischen Systemen mit Konzentrationen der Zusatzstoffe unterhalb eines optimalen Substratangebots gearbeitet wird. Zur Erklärung dieser besonders hohen Aufnahmerate bei 10 mm langen Zellen, müßten zusätzlich spezifische Membranaktivitäten angenommen werden.

3. Cysten- und Hutbildungsphasen

Mit Beginn der Hutbildung stagniert das Längenwachstum der Zelle. Daher wird die Entwicklung von *Acetabularia* in drei Phasen unterteilt, 1. Längenwachstum, 2. Hut-(Gametangium)-bildung, 3. Cysten- bzw. Gametenbildung. Während das Längenwachstum auch bei geringen Beleuchtungsstärken abläuft, sind für die Hut- und Cystenbildung jeweils höhere Intensitäten erforderlich. Besonders TERBORGH & THIMANN (1965) entwickeln ein Schema, das einen "stetig wachsenden Bestrahlungsbedarf im Lauf der Entwicklung voraussetzt". Dieses Schema kann in der vorgeschlagenen Weise zumindest für *A. clift* nicht bestätigt werden. Die Beleuchtungsstärke ist zwar auch bei *A. clift* entscheidend für die Entwicklung, ein steigender Lichtbedarf für die Initiation bestimmter Prozesse, die nur in stets gleicher Reihenfolge ablaufen können, besteht jedoch nicht (Abb. 7). Bei geringer Beleuchtungsstärke (250 lx) werden Cysten im Stiel gebildet, die Zellen wachsen weiter. Später entstehen z.T. Hüte in anderen Zellen, die jedoch steril bleiben. Bei etwa 300 bis 400 Lux werden wie bei normalen Zellen Hüte gebildet, Cysten im Hut jedoch nicht, später aber im Stiel. Diesen Befunden wird BETH (1955 b) mit seiner Annahme eines unterschiedlichen Lichtbedürfnisses der einzelnen Prozesse, die je nach Beleuchtungsstärke unabhängig voneinander ablaufen können, eher gerecht. Für *A. clift* lassen sich relativ feine Abstufungen zeigen. Das geringste Lichtbedürfnis hat dabei das Stielwachstum, das höchste Lichtbedürfnis die ausschließliche Cystenbildung im Hut. Auch eine weitere Aussage von BETH (1955a) "daß das schwächere Licht besser verwertet wird" läßt sich hiermit belegen, wenn unter "besser" das Heranwachsen von Geschlechtszellen mit geringerem Energieaufwand verstanden wird. Die benötigte Lichtmenge bis zur Cystenbildung im Stiel beträgt bei 250 Lux und 31 w 651.000 lx x h, für die Cystenbildung im Hut bei 1000 lx und

15 w dagegen 1.260.000 lx x h (Tab. 3 und 4).

Gemäß Abb. 7 verschiebt sich mit höherer Beleuchtungsstärke die Differenzierung innerhalb der Zelle kontinuierlich zugunsten der Cystenbildung im Hut. Verschiedene Stadien sind nebeneinander möglich, der Zeitpunkt der jeweiligen Entwicklung ist z.T. umkehrbar; z.B. fertiler Stiel nach sterilem Hut. Desgleichen ist es möglich, daß zunächst die Gametenbildung im Stiel und dann im Hut einsetzt. Die strikte Phasengliederung kann daher für A.clift nicht aufrechterhalten werden.

Auch die Annahme, daß bestimmte Differenzierungsprozesse andere Entwicklungen hemmen, ist zu modifizieren. Je feiner bis zu etwa 1000 Lux die Abstufungen der Beleuchtungsstärke gewählt werden, desto unterschiedlichere Entwicklungen sind feststellbar. Damit wird die Bedeutung des Hutes für die Zelle als Gametangium in Frage gestellt (s.a. HÄMMERLING 1944). Schon bei normalem Entwicklungsablauf zeigt sich seine Variabilität indem seine Gestalt, d.h. die Kammerzahl stark schwanken kann. Im Extremfall ist er bei A.clift auf eine Kammer reduziert. Bei den hier diskutierten Verhältnissen ist er z.T. nur noch ein, den Wirteln vergleichbarer, steriler Auswuchs.

Da eine physiologische Notwendigkeit für die Hutbildung bei A.clift nicht nachweisbar ist, ist zu überlegen, inwieweit die Bildung eines Hutes für die Zelle einen physiologischen Vorteil darstellt. Die getrenntwachsenden, schlauchartigen Hutkammern ähneln in ihrer Geometrie kurzen Stielteilen mit verstärktem Durchmesser. Da bei geringen Beleuchtungsstärken der Stiel stark verlängert ist, reicht seine Kapazität zur Aufnahme der entstehenden Cysten aus, die Notwendigkeit einen Hut zu bilden entfällt. Tatsächlich sind die bei etwas höherer Beleuchtungsstärke im Schwachlicht gebildeten Hüte auch kleiner als "Normalhüte". Diese Überlegung stimmt überein mit der Cystenbildungsmechanik. Nach Bildung der Sekundärkerne bewegen diese sich in apikaler Richtung, sammeln sich im Hut, dessen Plasma sich um die einzelnen Kerne zu Cysten ausformt (WERZ 1968). In Abhängigkeit von der Zeit können die verschiedenen Stadien bis zur fertigen Cyste nachgewiesen werden. Dieser Zeitgradient ergibt sich in gleicher Weise bei einem stark verlängerten Stiel. Die unabhängig von einer Hutbildung beim Primärkernzerfall entstehenden Sekundärkerne bilden nach einer bestimmten Zeit

Mit dem Zusatz von C-14markiertem NaHCO_3 ist nachweisbar, daß der lichtabhängige Stoffwechsel von Cysten mit dem der Zellen vergleichbar ist, da sie in gleicher Weise (licht- und zeitabhängig) C-14 aufnehmen (Abb. 16).

Um die C-14-Aufnahme zu erklären, ist festzustellen in welcher Form es gebunden ist. Zu berücksichtigen ist dabei die pH-Abhängigkeit der Na-Bikarbonatdissoziation. Bei pH 6.5 beträgt die relative Bikarbonatkonzentration etwa 75 % (gegenüber 25 % CO_2), bei pH 7.5 etwa 95 % (gegenüber 5 % CO_2 und einem sehr geringen Anteil Karbonationen). Damit muß beim pH des Mediums ein gewisser Teil des markierten Kohlenstoffs als CO_2 vorliegen. Untersuchungen an submersen Zellen und Chloroplasten zeigen jedoch, daß entsprechend der begünstigten HCO_3^- -Konzentration die Bikarbonataufnahme entscheidend ist (z.B. BIDWELL et al. 1969). Physiologisch sinnvoll ist dieser Vorgang durch eine in den Chloroplasten lokalisierte Bikarbonat-Anhydratase, durch die CO_2 als Substrat für die Ribulose diphosphat-Carboxylase gewonnen wird. Die Anhydratase ist induzierbar und nur bei Bikarbonat-Fütterung zu finden (WALKER 1973, BUCHANAN et al. 1973). Damit könnten zwei verschiedene Aufnahmesysteme wirksam werden. Ein Anionentransportmechanismus für das Bikarbonat und ein möglicherweise passiver Aufnahmemechanismus für das Kohlendioxid.

Die Meßwerte (Abb. 16) zeigen, daß der C-14-Einbau etwa proportional zur Beleuchtungsstärke und damit zur Photosynthese ist. Der Dunkeleinbau kann nicht auf Photosyntheseleistungen zurückgeführt werden. Drei Erklärungsmöglichkeiten bieten sich an. Zunächst könnte die Dunkelaufnahmerate durch die Kapazität des Anionentransportmechanismus bestimmt werden, der bei fehlender Verarbeitung der aufgenommenen Stoffe stagniert. Eine weitere Möglichkeit bietet sich durch die Funktion des apparent free space (AFS) an. Da die ungehinderte Stoffaufnahme in diesen Raum innerhalb weniger Minuten vor sich geht, ist bei den hier gewählten Zeiten nur noch die Sättigung zu beobachten. Gegen diese Annahme spricht jedoch die Tatsache, daß die Extrapolation der Lichtkurven in Abb. 16 für den AFS stets andere Werte liefert. Eine Lichtabhängigkeit der Stoffaufnahme in den AFS ist jedoch höchst unwahrscheinlich. Als letztes verbleibt die Möglichkeit, die konstante Dunkelrate auf die Einstellung eines Diffusionsgleichgewichts zu-

rückzuführen. Da die freie Diffusion von Ionen stark eingeschränkt ist, könnte hier der geringe CO_2 -Anteil wirksam werden. Damit ließe sich auch die sehr niedrige Dunkelrate erklären.

Die Glucoseaufnahme im Dunkeln zeigt eine andere Charakteristik. Die Impulsrate wächst zunächst mit der Zeit (Abb. 17, Tab. 12a). Der Zuwachs bis zur 72. Stunde nimmt jedoch stetig ab und zeigt einen Endwert von etwa 54 Impulsen/min/ μg Chlorophyll. Der C-14-Bikarbonatmeßwert, der schon nach einer Stunde konstant ist und etwa 10 Impulse/min/ μg Chlorophyll beträgt (Abb. 16), weist nur scheinbar auf eine niedrigere Inkorporationsrate. Da die Glucose eine 6.8-fache, spezifische Aktivität (286 mCi/mmol) gegenüber dem Bikarbonat (42.4 mCi/mmol) besitzt, könnte sie alleine die unterschiedlichen Meßwerte für bikarbonatfreies Medium erklären. Das würde dann bedeuten, daß die Menge insgesamt transportierter Moleküle jeweils etwa gleich ist.

Da das Medium jedoch bikarbonathaltig ist, wird die spezifische Aktivität des markierten Bikarbonats um etwa ein Hundertstel herabgesetzt (SCHAEEL & CLAUSS 1968). Das bedeutet, daß die C-14-Endimpulsrate bei Karbonatfütterung nur durch eine etwa hundertfach höhere Molekülaufnahme gegenüber dem Glucosetransport erklärt werden kann. Damit ergibt sich im Dunkeln für die Glucose in den Cysten eine sehr viel langsamere Transportgeschwindigkeit als für $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$.

Dieser Befund deutet auf einen passiven Aufnahmemechanismus der Glucose, zumal die Glucoseinkorporation stark konzentrationsabhängig ist (Tab. 12b). Damit ergibt sich insbesondere ein Widerspruch zu einem von TANNER et al. (1969) postulierten Hexoseaufnahmesystem bei Chlorella. Dort ist die Kinetik der Glucoseaufnahme bei einmal induzierten Zellen konzentrationsunabhängig. Daher scheint es bei A.clift-Cysten, ein spezifisches Hexoseaufnahmesystem nicht zu geben.

Für die Glucoseaufnahme im Licht ergeben sich einige Ergänzungen. Die stark erhöhte Inkorporation bei 5000 Lux, speziell für 3.0 $\mu\text{Ci/ml}$ ist signifikant (Tab. 12b). Im lichtabhängigen Stoffwechsel der Cysten werden die aufgenommenen Moleküle verarbeitet, in starker Abhängigkeit ihres physiologischen Zustandes. Die besondere Aktivität junger Cysten kann aufgrund eigener Erfahrungen mit A.clift-Cysten in Beziehung gesetzt werden zum Schwärmverhalten der Gameten, die sich aus alten Cysten schwerer aktivieren ließen.

mit dem sie umgebenden Plasma Cysten. Bei kürzerer Stiel-
länge angelegten Hüten besteht die Möglichkeit, daß noch
Sekundärkerne in den Hut gelangen und auch dort Cysten bil-
den. Auch der umgekehrte Fall einer Cystenbildung im Stiel
nach einer Cystenbildung im Hut bei einer etwas höheren Be-
leuchtungsstärke läßt sich mit dieser Hypothese erklären. Die
letzten Sekundärkerne erreichen nicht mehr den Hut, die
Cysten werden mit Stielplasma gebildet.

Inwieweit sich diese Überlegungen auf andere Acetabularia-
Arten übertragen lassen, kann nur vermutet werden. Aufgrund
des extremen Längenwachstums ist *A. clift* sicher die geeig-
netste Art, Raum-Zeit-Differenzierungen nachzuweisen. Unter
Heranziehung der Befunde BETHs an *Acicularia* wird geschlossen,
daß ein starrer Phasenablauf auch bei anderen Acetabularia-
Arten nicht fixiert ist.

Diese Tatsache bleibt leicht verdeckt, da bei mittleren Be-
leuchtungsstärken Acetabularia Differenzen zu kompensieren
vermag, sofern die Lichtmenge ausreichend ist. Besonders gilt
das für das Erreichen der Maximallänge (Tab. 6), aber auch der
Lichtmengenbedarf zwischen verschiedenen, morphogenetischen
Phasen ist in einigen Fällen relativ konstant (Tab. 5).

4. Wirtelbildung

Während das Wachstum des Stieles drei Abschnitte für unter-
schiedliches Volumen- und Oberflächenwachstum erkennen läßt,
gibt es für die Wirtelbildung eine etwas kompliziertere
Rhythmik. Bei Umrechnung der Wirtel in ihre Volumina bzw.
Flächen, könnten sie direkt in eine Kurve der Abb. 15 ein-
gearbeitet werden. Meßtechnisch war das nicht möglich. Auf
jeden Fall ist festzuhalten, daß die Wirtelrhythmik einen
Substanzaufbau und -verlust bzw. eine besonders starke Ver-
größerung und Verminderung der Oberfläche darstellt.

Mit den verschiedenen Wirtelmaxima liefert die schematische
Zusammenfassung der Wirtelbildung einen nicht erklärbaren
Befund (Abb. 14). Die kleinen Maxima der Phasen VII - IX
sind dabei nicht so gewichtig, da sie sich statistisch nicht
absichern lassen. Sie wurden jedoch in das allgemeine Schema
aufgenommen, da sie typisch erschienen. Kritischer ist jedoch
die Tatsache zu werten, daß nach dem starken Abfall der Wir-
telzahlen wieder ein Anstieg zu erkennen ist (Phase VI), ob-
wohl die Längenzunahme der Zelle nicht in gleicher Weise korre-
liert.

Die skizzierte Rhythmik ist über einen weiten Bereich von der Beleuchtungsstärke unabhängig. Mit der relativen Konstanz der Wirtelsumme kann damit auch geschlossen werden, daß stets die gleiche Zahl von Wirteln gebildet wird. Das gilt auch für die kürzere Lebensdauer der Zellen bei 3400 Lux. Die Entwicklung ist hier beschleunigt, aber qualitativ und quantitativ nicht verändert. Weiterhin scheint die Wirtelbildung bzw. die Abnahme der Wirtelbildung von der Hutbildung z.T. unabhängig zu sein. Maximale Wirtelzahlen sind sowohl vor als auch nach der Hutbildung zu finden (Tab. 9).

Von der geringsten untersuchten Beleuchtungsstärke bei 240 Lux abgesehen, ist für die Wirtelzahl die Licht/Dunkelperiode entscheidender als die Beleuchtungsstärke oder Lichtmenge. Bei 480 Lux beträgt die Lichtmenge in 7 Tagen 280×10^3 lx, bei 3400 Lux 2000×10^3 lx, dennoch ist die Wirtelsumme konstant 63. Bei 240 Lux Dauerlicht ist die Lichtmenge genauso groß wie bei 480 Lux 12/12, die Wirtelsumme beträgt jedoch etwa nur die Hälfte (36). Bei 520 Lux Dauerlicht mit $E \times t = 600 \times 10^3$ lx·d ist die Wirtelsumme etwa $1/3$ größer (81). Der Wirtelbildungsrythmus ändert sich jedoch auch bei Dauerlicht nicht. Somit erweist er sich als ein in seiner Charakteristik unbeeinflußbarer Prozeß.

5. Einbauversuche mit Cysten

Bei dem Versuch, Zellen im Dunkeln zu füttern, ergab sich die Frage inwieweit überhaupt eine Stoffaufnahme erfolgt. Um diese Frage grundsätzlich zu klären, wurden neben den verschiedenen Zellstadien auch Cysten untersucht. Die Verwendung von Cysten hat den methodischen Vorteil, daß diese sich sehr gut keimfrei machen lassen da sie sehr robust sind und Maßnahmen vertragen die normale Zellen nicht überleben würden. Es hat sich aber herausgestellt, daß ihre Stoffwechselaktivität so gering ist, daß sie als Versuchsobjekt weniger geeignet erscheinen. Die Einbauversuche mit Zellen zeigen, daß die Cystenaufnahmerate nur etwa den hundertsten Teil der Aufnahme von Zellen beträgt (bezogen auf μg Chlorophyll), die sichere Bestimmung von Impulsraten in der Nähe von Background-Werten ist jedoch ziemlich problematisch.

Die Abhängigkeit vom jeweiligen Zustand der Cysten bedingt damit starke Unsicherheiten für den Vergleich der Cystenaktivität verschiedener Arten (Tab. 12 c). Für A.clift und med läßt sich jedoch von den Cystenmaßen her schließen, daß bei clift mit etwa 3.5-fach größerem Volumen und ca. 15 x größerer Oberfläche die Stoffaufnahme größer sein muß, was sich bei 5000 Lux auch gut zeigen läßt.

6. Glucose- und Aminosäureeinbau in Zellen

Wie schon näher ausgeführt, nehmen die Zellen markierte Glucose im Dunkeln und im Licht in Abhängigkeit ihres physiologischen Zustandes auf. Weder die Gesamtaufnahme, noch die weitere Verarbeitung werden durch Chloramphenicol beeinflusst. Auch für Actinomycin D hat CHAUDHURI (1968) gefunden, daß es den Einbau markierter Aminosäuren in kernlose und kernhaltige Zellen nur zu maximal 7 % hemmt.

Diese Befunde stehen im Gegensatz zur Hemmung des Aminosäureeinbaus in Chloroplasten durch Chloramphenicol die GOFFEAU (1969) beschreibt. Kontrovers sind die Ergebnisse von APEL (1973) der eine Hemmung des Aminosäureeinbaus in isolierte Chloroplasten um 60 % feststellt und von KLOPPSTECH (1974) der nach einer Fütterung von ganzen Zellen in der 44S-Ribosomenuntereinheit der Chloroplasten durch Chloramphenicol eine Steigerung um 95 % erhält.

Ein Vergleich der Glucoseeinbauraten mit der Aminosäureinkorporation ist natürlich problematisch. Da die Substanzen im Stoffwechsel jedoch völlig umgesetzt werden (Abb. 18 und 19) und in allen Fällen der freie Aminosäurepool etwa konstant ist (s.a. CHAUDHURI 1968, CLAUSS 1975) erscheint er möglich. Bei den hier untersuchten Verhältnissen in der ganzen Zelle werden etwaige, spezifische Effekte in den Chloroplasten möglicherweise überdeckt. Daneben ist zu fragen, inwieweit die Einbauraten auch in Chloroplasten vom jeweiligen Zustand der Zellen abhängen. Diese Frage war in den zitierten Arbeiten von geringerer Bedeutung in denen es darauf ankam, den Syntheseort von Chloroplasten- Membran- und Ribosomenproteinen herauszufinden.

Die Aufnahme- und Verarbeitungsdaten für die verschiedenen zugesetzten Substanzen zeigen, daß die qualitativen Leistungen innerhalb von 24 Stunden relativ unabhängig vom Molekültyp sind. D.h. die Stoffe werden in etwa gleichem Maße im

Dunkeln inkorporiert und vollständig metabolisiert (Tab. 15, Abb. 19). Die Aufnahme steht in keiner Beziehung zur Molekülgröße und zum Ladungscharakter und auch in der weiteren Verarbeitung sind alle untersuchten Fraktionen z.T. in gleicher Stärke durch C-14 der vier inkorporierten Stoffe markiert.

Die quantitativen Unterschiede sind jedoch gravierend, wobei die teilweise äußerst geringen Aufnahmequoten im Dunkeln die Inkubationsdauer bestimmen, die deshalb nicht verkürzt werden konnte. Daher wird die Möglichkeit gesehen, daß bei Kurzzeitinkubationen auch qualitative Verschiebungen der Stoffverarbeitung zwischen Licht- und Dunkelzellen feststellbar sind. Ähnlich lange Inkubationszeiten benötigen auch KLOPPSTECH (1973 a, 1973 b, 1975) bei Versuchen mit H-3-Uridin (22 bzw. 24 h) und CHAUDHURI & SPENCER (1968) bei Aminosäurefütterung (6 - 72 h).

Der quantitative Unterschied des Gesamteinbaus wird einmal durch die Lichtverhältnisse zum anderen durch den Molekültyp bedingt. Die Molmasse der Glucose ist gleich der des Phenylalanins, gleichzeitig ist sie ein Anelektrolyt wie Saccharose (Tab. 14). Die Aufnahme der Glucose ist jedoch nur halb so groß wie die der Saccharose und des Phenylalanins. Der Anelektrolyt Saccharose hat dagegen die doppelte bzw. vierfache Masse der Elektrolyten Phenylalanin bzw. Glycin und wird in gleichem Maße wie diese beiden Stoffe inkorporiert. Dieser Befund deutet auf einen selektiven Aufnahmemechanismus hin, der molekültypspezifisch in der Membran lokalisiert ist und durch die Geschwindigkeit der anschließenden Verarbeitung im Zellstoffwechsel gesteuert wird.

Wie die anderen Moleküle wird Glucose im Dunkeln und im Licht umgesetzt (Abb. 18 und 19). Analog zur Saccharose macht sie nur einen Teil an der Radioaktivität der löslichen Zucker aus (Tab. 17). Gleichzeitig ist ein stets beachtlicher, markierter Fructoseanteil nachzuweisen, der für anschließende Stoffwechselreaktionen bedeutsam ist (CLAUSS & KECK 1959). Beim Glucoseeinbau und seiner Verarbeitung muß jedes Fructosemolekül das Stoffwechselprodukt eines Glucosemoleküls sein, das durch zwei Reaktionen der Glycolyse unter ATP-Verbrauch gebildet werden kann. Die enzymatische Hydrolyse der Saccharose liefert dagegen in einem Reaktionsschritt Fructose (und Glucose, besonders im Licht nachweisbar), wobei durch

Transglycosidierung anschließend Polysaccharide synthetisiert werden können. Dieser Reaktionsweg ist besonders von höheren Pflanzen vor allem für die Bildung der Polyfructoside bekannt (EDELMAN, JEFFORD 1969). Für Dasycladaceen wird von CLAUSS und KECK (1959) das Vorkommen von Fructosanen für typisch gehalten. SMESTAD et al. (1972) haben mit C-14 O₂ als Karbonat die ersten fünf Fructosanglieder markieren und trennen können.

Die Metabolisierung des Disaccharids Saccharose ist daher für die Pflanze energetisch günstiger. Das könnte auch Transportmechanismen der Stoffaufnahme beeinflussen und die um 50 % geringere Glucoseeinbaurate erklären. Diese enge Kopplung der Stoffaufnahme mit dem Gesamtstoffwechsel und damit auch mit den energieliefernden Schritten der Photosynthese findet eine weitere Bestätigung in den geringen Inkorporationsraten bei 0 Lux. Der nach Glucose- und Saccharosefütterung im Dunkeln zu findende hohe Anteil an Inosit, das aus dem Glucose-6-phosphat ableitbar ein Intermediärprodukt für Zellwandbausteine darstellt, läßt sich durch die Einstellung des Zellwandwachstums im Dunkeln erklären. So zeigen z.B. Untersuchungen von LOEWUS (1971), daß normalerweise myo-Inositol-C-14 schnell zu Zellwandpolysacchariden metabolisiert wird.

Mit Ausnahme der Beobachtung quantitativer Unterschiede zwischen der Glucose- und Saccharoseinkorporation, sind weitere Unterschiede in der Verarbeitung der einzelnen Stoffe kaum feststellbar. Durch Aminosäuren und Zucker wird der pool löslicher Aminosäuren in etwa gleichbleibendem Anteil markiert und hat bei den verschiedenen Versuchen ein etwa gleichbleibendes Niveau. Ebenso ist für beide Stoffgruppen ihr hoher Anteil an der Stärkefraktion (K in Abb. 19) charakteristisch. Ein zentraler Punkt ist daher in jedem Fall der Aminosäurestoffwechsel, der dann auch für den größten Anteil löslicher Zucker bei der Zuckerinkorporation verantwortlich sein könnte. Das würde bedeuten, daß die Moleküle der löslichen Zucker sofort in den Stoffwechsel eingehen und z.T. selbst nicht mehr nachweisbar sind, sondern erst nachdem sie vollständig umgesetzt und z.T. neu synthetisiert wurden. Damit ließe sich auch der höhere Anteil markierter, löslicher Zucker im Licht erklären, die als Produkte der Photosynthese im Licht anfallen. Eine erhöhte

Zuckeraufnahme im Licht, die direkt den hohen Anteil löslicher, markierter Zucker erklärt, ist dagegen unwahrscheinlich.

Die starke Abhängigkeit von der Photosynthese wird durch die Experimente mit DCMU bestätigt. Von DCMU wird angenommen, daß es die Lichtreaktionen der Photosynthese blockiert, indem es den Elektronentransport zwischen dem Photosystem II und I unterbricht. Es hemmt die Sauerstoffbildung im Photosystem II und soll die Reduktion von Cytochrom f durch kurzwelliges Licht hemmen und damit die zyklische Phosphorylierung unterbinden. Mit dieser Theorie stimmt die Aufnahme und Metabolisierung des inkorporierten C-14 bei DCMU-Zusatz überein. Es kann vermutet werden, daß durch die Blockierung der Photosynthese der gesamte Stoffwechsel gehemmt und damit die Stoffaufnahme indirekt beeinflusst wird. Beim Umbau der Moleküle die in die Zelle gelangen, werden nur die Wege die zur Synthese der Chlorophylle und Lipide führen nicht gehemmt. Daher ist dort eine C-14-Akkumulation zu beobachten, für deren Abbau offensichtlich ein intakter Elektronentransport notwendig ist.

Während die Inkorporationshemmung durch DCMU im Licht in Einklang mit den bisher bekannten Befunden über seine Wirkung steht, ist die hemmende Wirkung im Dunkeln damit nicht erklärbar. Da die Einbaurrate im Dunkeln unter der vergleichbarer Dunkelzellen ohne DCMU liegt (Tab. 13) reicht die Hemmung photosynthetischer Prozesse als Erklärung nicht aus. Dafür spricht auch der Befund, daß im Licht (mit DCMU) die Einbaurrate noch deutlich unter der Dunkelrate ohne DCMU liegt. Das deutet daraufhin, daß DCMU nicht nur Photosynthesemechanismen, sondern auch membrangebundene Prozesse beeinflusst.

Diese Aussage paßt zu der Annahme, daß bei jungen Zellen besondere Membranaktivitäten zu finden sind (Diskussion 2. Teil), und daß die Stoffaufnahme molekültypspezifisch ist. Die Aufnahmedaten der Zellen für Glucose lassen jedoch den Schluß zu, daß es sich um keinen spezifischen Glucoseaufnahmekanismus handelt. Einen solchen Mechanismus scheint es bei *Chlorella* für Hexosen zu geben (TANNER et al. 1969, KOMAR & TANNER 1974), die Glucoseaufnahmekinetiken bei *A. clift* sind jedoch gegenüber denen bei *Chlorella* grundsätzlich verschieden. Dieser Unterschied könnte die Tatsache erklären, daß *Chlorella vulg.* im Dunkeln mit Glucose wachsen kann

(SHIHIRA & KHAUSS 1965). Davon ließe sich die Hypothese ableiten, daß alle Algen die im Dunkeln mit Glucose wachsen ein Hexoseaufnahmesystem besitzen, die anderen Arten dagegen nicht. Um sicher zu sein, müßten auch bei *A. clift* etwaige pH-Abhängigkeiten der Glucoseaufnahme überprüft werden, da die Aktivität der für *Chlorella* postulierten Hexose-carrier protonenabhängig ist.

Damit erscheint die Erklärung der Stoffaufnahme bei *A. clift* kontrovers. Hinzukommt, daß die Aktivitäten jüngerer Zellen sich auf verschiedene Weise erklären lassen. Neben der Annahme membran-gebundener Mechanismen könnte die Zusammensetzung der Membran, insbesondere des Plasmalemmas, die sich während der Zellentwicklung ändert, eine Rolle spielen (WERZ 1963, 1968), oder aber die höhere Stoffwechselintensität der jüngsten Zellen, die gemessen an der Photosyntheseaktivität zwei- bis dreimal größer ist als bei älteren Pflanzen (CLAUSS 1975) bestimmt die höhere Stoffaufnahme; diese ist dann jedoch wesentlich höher, als der Vergleich mit der Photosyntheseintensität vermuten läßt.

Aufgrund dieser Resultate scheinen für die Stoffaufnahme bei *A. clift* folgende Prinzipien zu gelten.

1. Ein spezifisches Hexoseaufnahmesystem gibt es nicht.
2. Die Zucker- und Aminosäureinkorporation ist von der Photosynthese abhängig.
3. Die im Dunkeln aufgenommenen Stoffmengen sind daher zu gering, so daß sie, obwohl sie metabolisiert werden, nicht ausreichen das Wachstum anzuregen. Oder aber eine direkte Verbindung zur Photosynthese ist notwendig, um die verarbeiteten Stoffe für ein Wachstum nutzbar zu machen.
4. Für den Transport der Stoffe durch die Membran gibt es ein System, das bestimmte Moleküle unabhängig von ihrer Größe oder Ladung bevorzugt.

Werden die Zellen nach 24-stündiger Glucoseinkorporation in nichtradioaktives Medium überführt, so bleibt die Gesamtpulsrate des eingebauten Materials erhalten (Tab. 13). Das aus dem Medium übernommene C-14 wurde also von den Zellen innerhalb von 24 h in ihre Umgebung kaum abgegeben. Das kann bedeuten, daß der Einfluß des AFS bei *A. clift* gering ist und daß darüber hinaus von den Zellen C-14 fest gebunden ist. Der Dunkelstoffwechsel ist also mindestens soweit intakt, daß die aufge-

nommenen Substanzen vom Stoffwechsel voll umgesetzt werden. Wie die Untersuchung der einzelnen Fraktionen zeigt (Abb. 18), nehmen die Impulsratenanteile der löslichen Zucker und der Kohlenhydrate im Dunkeln und im Licht ab, der Anteil der Zellwandfraktion nimmt im Licht dagegen zu. Diese Tatsache kann mit Wachstumsleistungen der Zelle erklärt werden, während im Dunkeln eine Anreicherung des pools löslicher Aminosäuren erfolgt.

Bei Lichtbedingungen fällt die Asparaginsäure besonders auf (Tab. 17). Während ihr Anteil am Aminosäurepool unter normalen Verhältnissen etwa 16 % beträgt, sinkt er auf 8 % in den 24 h im nichtradioaktiven Medium. Da Asparaginsäure im Stoffwechsel verhältnismäßig leicht in Oxalacetat überführt werden kann und damit in Glucose und Zellwandzucker ergibt sich eine Ergänzung zur Erklärung der Steigerung des Impulsratenanteils der Zellwand im Licht, bzw. des Anstiegs der Gesamtpulsrate des Aminosäurepools im Dunkeln. Im Dunkeln zeigen die Einzelwerte für Asparaginsäure auch keine Veränderung gegenüber den anderen Versuchen. Daß sie alle niedriger als im Licht sind, kann mit einer relativ verstärkten Kohlenhydratsynthese über Aminosäuren im Dunkeln zusammenhängen.

Eine ähnliche Rolle könnte die Asparaginsäure auch in den Versuchen mit 14-tägiger Vordunkelperiode spielen. Im Licht sinkt ihr prozentualer Anteil an den löslichen Aminosäuren von etwa 16 % bei Versuchen ohne Vordunkel auf 6 %. Gleichzeitig zeigt die Stärkebestimmung, daß die im Vordunkel abgebaute Stärke von etwa 8.8 µg/Zelle auf 0.1 µg/Zelle im Licht innerhalb von 24 h wieder auf 5.5 µg/Zelle synthetisiert wird (Abb. 21). Daher sind die Anteile der löslichen Zucker die höchsten gemessenen, da sie als wichtige Vorstufen der Polysaccharidsynthese anfallen (Abb. 20). Die Gesamtaufnahmerate und damit der Aufnahmemechanismus wird durch die Vordunkelperioden nicht beeinflußt (Tab. 16). Es finden Verschiebungen innerhalb der weiteren Metabolisierung statt, die im wesentlichen den Kohlenhydratstoffwechsel betreffen. Da die Impulsraten der Zellwandfraktion etwas abnehmen, wird angenommen, daß die Wandbildung auch etwas zurückgeht.

Zusammenfassung

1. A.clift ist eine photosynthetisch autotrophe Alge, die im Dunkeln durch den Zusatz organischen Kohlenstoffs in Form von Acetat, Glucose, Saccharose und Aminosäuren nicht zum Wachstum angeregt werden kann. Dies wird damit erklärt, daß die Stoffaufnahme bei dieser Alge grundsätzlich von der Photosynthese abhängig ist und sie ein spezifisches Hexoseaufnahmesystem nicht besitzt.
2. Eine Aufnahme von Zuckern und Aminosäuren durch Cysten und Zellen im Dunkeln ist zwar möglich, sie ist jedoch zu gering, um ein Wachstum anzuregen.
3. Ein selektiver Molekülaufnahmemechanismus scheint vorzuliegen.
4. A.clift zeigt ähnlich wie A.cal Stielwachstumsphasen, in denen zunächst das Oberflächenwachstum und dann die Volumenvergrößerung stark begünstigt sind. In einer dritten Phase entsprechen die Flächen- und Volumenvergrößerung einander.
Die Stoffaufnahme durch A.clift im Dunkeln korreliert mit der Oberfläche besser als mit dem Volumen.
5. Die Reihenfolge der normalerweise aufeinanderfolgenden Wachstumsphasen von A.clift ist nicht fixiert. Geringe Beleuchtungsstärken können durch eine längere Beleuchtungsdauer kompensiert werden.
6. Die Wirtelbildung von A.cal zeigt eine bestimmte Rhythmik, die in weiten Grenzen von der Beleuchtungsstärke unabhängig ist.

Literaturverzeichnis

- AOKI, S., HASE, E.: De- and Regeneration of Chloroplasts in the Cells of *Chlorella protothecoides*.
I. Synthesis of Nucleic Acids and Protein in Relation to the Process of Regeneration of Chloroplasts.
Plant and Cell Physiol. 5, 473 - 484 (1964)
- APEL, K., SCHWEIGER, H.-G.: Sites of Synthesis of Chloroplast-Membrane Proteins.
Eur. J. Biochem. 38, 373 - 383 (1973)
- APP, A. A., JAGENDORF, A.T.: Incorporation of labelled Amino acids by Chloroplast Ribosomes.
Biochim.Biophys. Acta 76, 286 - 292 (1963)
- ARNON, D.J.: Copper Enzymes in isolated Chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*.
Plant Physiol. 24, 1 - 15 (1949)
- BERGER, S.: RNA-Synthese in isolierten Chloroplasten von *Acetabularia*.
Dissertation, Köln (1967)
- BETH, K.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf die Formbildung von kernhaltigen und kernlosen *Acetabularia*-Zellen.
Z. Naturforschg. 8 b, 334 - 342 (1953)
- BETH, K.: Beziehungen zwischen Wachstum und Formbildung in Abhängigkeit von Licht und Temperatur bei *Acetabularia*.
Z. Naturforschg. 10 b, 267 - 276 (1955)
- BETH, K.: Unterschiedliche Beeinflussung von Wachstum und Teilung durch Veränderung von Licht und Temperatur.
Z. Naturforschg. 10 b, 276 - 281 (1955)
- BIDWELL, R.G.S., LEVIN, W.B., SHEPARD, D.C.: Photosynthesis, Photorespiration and Respiration of Chloroplasts from *Acetabularia mediterranea*.
Plant Physiol. 44, 946 - 954 (1969)
- BONOTTO, S.: Quelques observations sur la morphologie des cystes d'*Acetabularia mediterranea*.
Protoplasma 67, 407 - 412 (1969)

- BONOTTO, S., GOFFEAU, A., JANOWSKI, M., VANDEN DRIESCHE, T.,
BRACHET, J.: Effects of various Inhibitors of Protein
Synthesis on *Acetabularia mediterranea*.
Biochim. Biophys. Acta 174, 704 - 712 (1969)
- BRACHET, J., CHANTRENNE, H., VANDERHAEGHE, F.: Recherches
sur les interactions biochimiques entre le noyau et
le cytoplasme chez les organismes unicellulaires.
II. *Acetabularia mediterranea*
Biochim. Biophys. Acta 18, 544 - 563 (1955)
- BREMER, H.J., SCHWEIGER, H.G., SCHWEIGER, E.: Das Verhalten
der freien Aminosäuren in kernhaltigen und kernlosen
Acetabularien.
Biochim. Biophys. Acta 56, 380 - 382 (1962)
- BOURNE, E.J., PERCIVAL, E., SMESTAD, B.: Carbohydrates of
Acetabularia species.
Carbohydr. Res. 22, 75 - 82 (1972)
- BUCHANAN, B.B., SCHÜRMANN, P.: Ribulose 1.5-Diphosphate
Carboxylase: A regulatory Enzyme in the Photosynthetic
Assimilation of Carbon Dioxide.
Curr. Topics Cell Reg. 7, 1 - 20 (1973)
- CHAUDHURI, T.K., SPENCER, R.P.: Amino Acid Uptake in
Acetabularia.
Protoplasma 66, 255 - 259 (1968)
- CHAPMAN, L.F., CIRILLO, V.P., JAHN, T.L.: Permeability to
Sugars and Fatty Acids in *Polytoma obtusum*.
J. Protozool. 12, 47 - 51 (1965)
- CLAUSS, H., KECK, K.: Über die löslichen Kohlenhydrate der
Grünalge *Acetabularia mediterranea* und deren quanti-
tative Veränderungen in kernhaltigen und kernlosen
Zellen.
Planta 52, 543 - 553 (1959)
- CLAUSS, H.: Beeinflussung der Morphogenese, Substanzproduk-
tion und Proteinzunahme von *Acetabularia mediterranea*
durch sichtbare Strahlung.
Protoplasma 65, 49 - 80 (1968)
- CLAUSS, H.: Der Einfluß von Rot- und Blaulicht auf die Photo-
synthese von *Acetabularia mediterranea* und auf die
Verteilung des assimilierten Kohlenstoffs.
Protoplasma 74, 357 - 379 (1972)

- CLAUSS, H.: Photosynthese-Intensität und Stoffwechsel der Acetabularia-Zelle in Abhängigkeit von ihrem Entwicklungsstand.
Protoplasma 83, 147 - 166 (1975)
- CRAIG, I.W., GIBOR, A.: A direct Light Effect on maintaining Photosynthetic activity of Nitella Chloroplasts.
J. Cell Biol. 44, 305 - 309 (1970)
- CRAMER, M., MYERS, J.: Growth and photosynthetic Characteristics of Euglena gracilis.
Arch. Microbiol. 17, 384 - 402 (1952)
- DE VITRY, F.: Autoradiographic Study of the Incorporation of 5-Methylcytosine-H in Acetabularia mediterranea.
Exptl. Cell Res. 31, 376 - 384 (1963)
- EDELMAN, J., JEFFORD, T.G.: The Mechanism of Fructosan Metabolism in Higher Plants as exemplified in Helianthus tuberosus.
New Phytol. 67, 517 - 531 (1968)
- FREUND, H.: Über die Bedingungen des Wachstums von Oedogonium pluviale. Ein Beitrag zur Frage des Stickstoff- und Phosphoretolements.
Planta 5, 520 - 548 (1928)
- GIBOR, A., IZAWA, M.: The DNA-Content of the Chloroplasts of Acetabularia.
Proc. Natl. Acad. Sci. 50, 1164 - 1169 (1963)
- GOFFEAU, A., BRACHET, J.: Deoxyribonucleic Acid-Dependant Incorporation of Amino Acids into the Proteins of Chloroplasts Isolated from Anucleate Acetabularia-Fragments.
Biochim. Biophys. Acta 95, 302 - 313 (1965)
- GOFFEAU, A.: Incorporation of Amino Acids into the soluble and membranebound Proteins of Chloroplasts isolated from Eucleated Acetabularia.
Biochim. Biophys. Acta 174, 340 - 350 (1969)
- GOFFEAU, A.: Amino Acids Incorporation by Chloroplasts isolated from anucleate Acetabularia.
Biology of Acetabularia, 239 - 254 (New York-London 1970)

- GUNNING, B.E.S., PATE, J.S.: "Transfer Cells", Plant Cells with Wall Ingrowth, Specialized in Relation to Short Distance Transport of Solutes - Their Occurrence, Structure and Development.
Protoplasma 68, 107 - 133 (1969)
- HÄMMERLING, J.: Zur Lebensweise, Fortpflanzung und Entwicklung verschiedener Dasycladaceen.
Arch. Protistenkunde 97, 7 - 56 (1944)
- HÄMMERLING, J., WERZ, G.: Über den Wachstumsmodus von Acetabularia.
Z. Naturforschg. 13 b, 449 - 454 (1958)
- HÄMMERLING, J. und Ch.: Kernaktivität bei aufgehobener Photosynthese bei Acetabularia mediterranea.
Planta 52, 516 - 527 (1959)
- HAIS, I.M., MACEK, K.: Handbuch der Papierchromatographie 1958
- HARTMANN, M.: Untersuchungen über die Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Phytomonaden (Volvocales). III. Mitt. Die dauernd agame Zucht von Eudorina elegans, experimentelle Beiträge zum Befruchtungs- und Todproblem.
Arch. Protistenkunde 43, 223 - 286 (1921)
- KANDLER, O.: Über die Beziehungen zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese II. Gesteigerter Glucoseeinbau im Licht als Indikator einer lichtabhängigen Phosphorylierung.
Z. Naturforschg. 9 b, 625 - 644 (1954)
- KECK, K.: Culturing and Experimental Manipulation of Acetabularia.
in PRESCOTT, Methods in Cell Physiology, Vol I, 189 - 213
- KLOPPSTECH, K., SCHWEIGER, H.G.: 80-S Ribosomes from Acetabularia.
Biochim. Biophys Acta 324, 365 - 374 (1973)
- KLOPPSTECH, K., SCHWEIGER, H.G.: Synthesis of Chloroplast and Cytosol Ribosomes in Regenerating Acetabularia Cells.
Differentiation 1, 331 - 337 (1973)

- KLOPPSTECH, K., SCHWEIGER, H.G.: The Site of Synthesis of Chloroplast Ribosomal Proteins.
Plant Scie. Lett. 2, 101 - 105 (1974)
- KOMOR, E., TANNER, W.: The Hexose-Proton Cotransport System of Chlorella. pH-Dependent Change in K_m Values and Translocation Constants of the Uptake System.
Jour. Gen. Phys. 64, 568 - 581 (1974)
- LEAGUE, E.A., GREULACH, V.A.: Effects of daylength and temperature on the reproduction of Vaucheria sessilis.
Bot. Gaz. 117, 45 - 51 (1955)
- LINSKENS, H.F.: Papierchromatographie in der Botanik (1959)
- LOEWUS, F.: Carbohydrate Interconversions.
Ann. Rev. Plant Physiol. 22, 337 - 364 (1971)
- MARGULIES, M.M., BRUBAKER, C.: Effect of Chloramphenicol on Amino Acid Incorporation by Chloroplasts and Comparison with the Effect of Chloramphenicol on Chloroplast Development in vivo.
Plant Physiol. 45, 632 - 633 (1970)
- MILLBERGER, H., BLANK, E.: Versuche zur Nachprüfung der Wirkung auf die experimentelle Candida-albicans-Infektion der weißen Maus.
Naturwiss. 503 (1954)
- OSHIO, Y., EIJI, H.: Studies on Red Pigments by Cells of Chlorella prothecoides during the Process of Bleaching Induced by Glucose or Acetate.
Plant and Cell Physiol. 10, 41 - 49 (1969)
- SCHWEIGER, H.G., DILLARD, W.L., GIBOR, A., BERGER, S.: RNA-Synthesis in Acetabularia. I. kNA-Synthesis in Enucleated Cells.
Protoplasma 64, 1 - 12 (1967)
- SHIHIRA, I.I., HASE, I.: Nutritional Control of Cell Pigmentation in Chlorella protothecoides with special reference to the Degeneration of Chloroplasts induced by Glucose.
Plant and Cell Physiol. 5, 227 - 240 (1964)
- SHIHIRA, I.I., KRAUSS, R.W.: Chlorella, Physiology and Taxonomy of 41 Isolates.
Univ. Maryland College Park USA (1965)

- SHEPARD, D.C.: Axenic Culture of *Acetabularia* in a Synthetic Medium.
in "Methods of Cell Physiology" 49 - 69 (New York - London 1970)
- STAHL, E.: Dünnschichtchromatographie (1967)
- SMESTAD, B., PERCIVAL, E., BIDWELL, R.G.S.: Metabolism of Soluble Carbohydrates in *Acetabularia mediterranea* Cells.
Can. J. Bot. 50, 1357 - 1361 (1972)
- STEWART, W.D.P.(Herausg.): Algal Physiology and Biochemistry Blackwell Botanical Monograph, (Oxford 1974)
- TANNER, W., KANDLER, O.: Die Abhängigkeit der Adaptation der Glucose-Aufnahme von der oxidativen und der photosynthetischen Phosphorylierung bei *Chlorella vulgaris*.
Z. Pflanzenphys. 58, 24 - 32 (1967)
- TANNER, W., GRÜNES, R., KANDLER, O.: Spezifität und Turn-over des induzierbaren Hexose-Aufnahmesystems von *Chlorella*.
Z. Pflanzenphysiol. 62, 376 - 386 (1970)
- TERBORGH, J., THIMAN, K.V.: Interactions between Daylength and Light Intensity in the Growth and Chlorophyll Content of *Acetabularia crenulata*.
Planta 63, 83 - 98 (1964)
- TERBORGH, J., THIMAN, K.V.: The Control of Development in *Acetabularia crenulata* by Light.
Planta 64, 241 - 253 (1965)
- TREBOUX, O.: Organische Säuren als Kohlenstoffquelle bei Algen.
Ber. deut. bot. Ges. 23, 432 - 441 (1905)
- WALKER, D.A.: Photosynthetic Induction Phenomena and the Light Activation of Ribulose Diphosphate Carboxylase.
New. Phytol. 72, 209 - 235 (1973)
- WERZ, G., ZETSCHKE, K.: Autoradiographische Untersuchungen an verdunkelten, einkernigen Transplantaten von *Acetabularia mediterranea*.
Planta 59, 563 - 566 (1963)

- WERZ, G.: Morphogenetische Wirkungen von Aminosäuren bei Acetabularien.
I. Wirkungen von 3-C-Aminosäuren und verwandten Derivaten.
Planta 60, 205 - 210 (1963)
- WERZ, G.: Morphogenetische Wirkungen von Aminosäuren bei Acetabularien.
II. Die Beeinflussung der Morphogenese durch einige 4-C-Aminosäuren.
Planta 60, 211 - 215 (1963)
- WERZ, G.: Vergleichende Zellmembrananalysen bei verschiedenen Dasycladaceen.
Planta 60, 322 - 330 (1963)
- WERZ, G.: Plasmatische Formbildung als Voraussetzung für die Zellwandbildung bei der Morphogenese von Acetabularia.
Protoplasma 65, 81 - 89 (1968)
- WERZ, G.: Differenzierung und Zellwandbildung in isoliertem Cytoplasma aus Acetabularia.
Protoplasma 65, 349 - 357 (1968)
- WERZ, G., CLAUSS, H.: Über die chemische Natur der Reserve-Polysaccharide in Acetabularia-Chloroplasten.
Planta 91, 165 - 168 (1970)
- SCHAEEL, U., CLAUSS, H.: Die Wirkung von Rotlicht und Blaulicht auf die Photosynthese von Acetabularia mediterranea.
Planta 78, 98 - 114 (1968)

Herrn Prof. Dr. H. CLAUSS möchte ich für die Betreuung
dieser Arbeit danken.

Insbesondere für die wertvollen Diskussionen, praktischen
Hinweise und seine Geduld.

Lebenslauf

6. IX. 1943 Frank Hellmann, geboren als Sohn von Irmgard und Charles Hellmann während der Evakuierung in Wreschen / Polen.
1. IX. 1949 Einschulung in Berlin - Schöneberg.
- 12.III. 1962 Abitur an der Lily Braun - Schule, neusprachlich-mathematisch-naturwissenschaftliches Gymnasium in Berlin - Spandau.
1. IV. 1962 Studienbeginn an der Freien Universität Berlin in den Fächern Biologie, Chemie und Physik.
1. X. 1966 bis 31.III. 1968 studentische Hilfskraft am Pflanzenphysiologischen Institut FU Berlin.
1. IV. 1968 bis 30.IX. 1968 Teilzeitassistent am Pflanzenphysiologischen Institut FU Berlin.
5. VI. 1968 Erste (Wissenschaftliche) Staatsprüfung vor dem Wissenschaftlichen Landesprüfungsamt Berlin, in den Fächern Biologie, Chemie und Physik.
7. XI. 1968 Ernennung zum Studienreferendar; Friedrich-Engels-Schule, Berlin - Reinickendorf.
10. IV. 1969 Wechsel an die Hans Carossa-Schule in Berlin-Spandau; Fachleiter für Biologie.
19. VI. 1970 Zweite Staatsprüfung für das Amt des Studienrats.
25. VI. 1970 Eheschließung mit Swetlana Semenoff.
- 1.VII. 1970 Ernennung zum Studienassessor.
- 1.XII. 1972 Ernennung zum Studienrat.
1. IV. 1974 Übernahme der Fachbereichsleitung für Biologie und Chemie an der J.F.Kennedy - Schule.
- 1.VII. 1975 Ernennung zum Studiendirektor.

